INRA mensuel

N° 1 - 1989

LES DOSSIERS

Biotechnologies à Jouy-en-Josas

Biotechnologies Protéger les inventions

Analyse de séquence d'un acide désoxyribonucléique (ADN) par électrophorèse : technique de base en biotechnologie.

Biotechnologies à Jouy-en-Josas



Un projet inscrit dans une politique d'ensemble



Bâtiment des Biotechnologies à Jouy-en-Josas.
Photo Christian Slagmulder

Dès le début des années 80, il devenait évident que les nouveaux acquis scientifiques des biologistes auraient des retombées d'importance stratégique pour notre agriculture et nos industries agro-alimentaires. L'INRA, conformément à sa mission, se devait donc d'assurer la maîtrise des biotechnologies dont ses partenaires socio-économiques auraient à terme le plus grand besoin. Il était également urgent de faire un effort très significatif dans ce domaine car notre retard sur certains pays comme les Etats-Unis devenait alarmant. Lancé en 1982, le programme mobilisateur « Essor des Biotechnologies » a fortifié les prises de conscience et permis la naissance de projets ambitieux. L'INRA pour sa part a analysé ses forces : l'Institut ne manquait pas d'excellentes équipes de biologistes mais elles étaient dispersées sur plusieurs implantations, et souvent de dimensions trop modestes pour satisfaire aux exigences de la biologie moderne. Par ailleurs, certaines disciplines ou certains savoir-faire, perçus comme des maillons essentiels d'une chaîne de compétences, faisaient défaut à notre organisme, voire à notre pays. Dès lors, pour résoudre ces problèmes et atteindre le niveau de compétitivité internationale qu'il s'était fixé, l'INRA décida de regrouper ses moyens sur plusieurs pôles et d'y concentrer l'essentiel des investissements consentis aux biotechnologies. Plusieurs de ces pôles ont ainsi été créés*, en particulier à Jouy.

Le bâtiment des biotechnologies de Jouy-en-Josas regroupe des équipes appartenant à des disciplines très différentes. Les unes se consacrent à la biologie cellulaire et moléculaire du règne animal et à ses pathologies, les autres à la génétique et à l'écologie microbienne. Certaines équipes existaient déjà à l'INRA, et ont été rassemblées dans cette nouvelle implantation ; d'autres ont été créées, notamment les équipes de génétique bactérienne. Ce qui répondait également à un vœu exprimé par les industriels de l'agro-alimentaire.

Le regroupement d'équipes aussi diverses peut surprendre ; il apporte en fait de très précieux avantages, en particulier, la possibilité, par la mise en commun des investissements, d'acquérir une instrumentation très performante mais coûteuse. Mais il y en a bien d'autres : l'accroissement des échanges d'idées et de méthodes entre chercheurs, la capacité plus grande de déboucher sur des applications et d'accueillir des jeunes en formation, la mise en œuvre d'un véritable esprit d'entreprise dans l'animation de l'ensemble des laboratoires...

Guy Paillotin
Directeur général adjoint
chargé des questions scientifiques
de 1984 à janvier 89

* Voir « quelques données sur les biotechnologies à l'INRA ».



Biotechnologies à Jouy-en-Josas

Le dossier présenté ici explore les aspects suivants : Un projet inscrit dans une politique d'ensemble par Guy Paillotin ● Equipes, activités et structures par Pierre Mauléon ● Quelques données sur les biotechnologies à l'INRA ● Stabilité de l'information génétique par Dusko Ehrlich ● La transgenèse chez les animaux domestiques par Louis Marie Houdebine ● Ecologie microbienne du tube digestif par Robert Ducluzeau ● Vaccination antivirale : nouvelles perspectives par Hubert Laude ● Techniques et moyens de pointe par Jacques Laporte ● Réalité du bâtiment des biotechnologies : recherche et architecture ● Recherches en biotechnologies : point de vue sur la sécurité par Roland Choquet ●

Comité scientifique de ce dossier : Pierre Mauléon, Dusko Ehrlich, Louis-Marie Houdebine, Jacques Laporte.

Un article sur « Sélection animale et Biotechnologies » de Jean-Claude Mercier, génétique biochimique à Jouy, est prévu dans le prochain dossier.

Equipes, activités et structures



Photo Gérard Paillard

Il est classique aujourd'hui d'identifier les biotechnologies à l'exploitation des techniques issues de la biologie moléculaire et cellulaire. Mais l'exemple du Centre de Jouy montre bien que leur objet concerne l'ensemble de la sphère du vivant, de la cellule et de ses constituants jusqu'à l'organisme et à l'animal entier.

En effet, la maîtrise des processus biologiques complexes est en passe de devenir une réalité car les scientifiques savent de plus en plus en définir les étapes stratégiques. Celles-ci sont contrôlées par des molécules clés identifiables à l'aide de techniques immunologiques et enzymatiques, ou d'hybridation *in situ.*

C'est pourquoi le regroupement opéré de généticiens, physiologistes et de pathologistes avec des biochimistes, morphologistes, microbiologistes, biologistes moléculaires et cellulaires permettra de confronter les travaux effectués sur les cellules eucaryotes (animales) et procaryotes (bactéries), les virus... à des démarches de laboratoires et de terrain, bref de stimuler l'innovation.

Génétique et sondes moléculaires : vers une nouvelle sélection

Les 17 chercheurs de l'unité de génétique mènent des travaux en génétique biochimique, cytogénétique et immunologie génétique complétant ainsi les travaux de sélection plus traditionnelle effectués dans d'autres laboratoires de l'Institut.

En effet, les méthodes employées en sélection animale évoluent rapidement. La recherche et l'identification de gènes ou de groupes de gènes clés dits « majeurs » intervenant sur l'expression d'un caractère repéré dans des populations naturelles, devient possible. C'est ainsi que les gènes déterminant la prolificité (gène booroola), la qualité de la viande porcine, les caractéristiques et les proportions des protéines du lait seront étudiés à Jouy.

Le laboratoire de génétique biochimique a déjà mis au point des techniques et bientôt une sonde capable de repérer sur le génome bovin la présence d'allèles des caséines (protéines qui déterminent l'aptitude fromagère des laits).

La mise au point de sondes moléculaires analogues est en cours pour les races caprines après une étude biochimique approfondie du polymorphisme génétique d'une des caséines.

Reproduction, croissance et développement

L'étude des fonctions physiologiques de la reproduction, de la croissance et de régulations endocriniennes et nerveuses a toujours représenté un pôle important des recherches de l'Institut aux applications déjà nombreuses, telles que l'insémination artificielle ou les transferts et les manipulations d'embryons. Avec le développement de la biologie moléculaire et cellulaire, de nouvelles perspectives apparaissent.

Plusieurs unités, regroupant une trentaine de chercheurs, travaillent sur l'endocrinologie, l'embryologie moléculaire, la différenciation cellulaire, en association avec deux groupes de biochimie physique et de microscopie électronique. De même qu'en génétique, la mise au point de sondes permettant de caractériser la qualité des stades physiologiques découle des travaux sur la différenciation cellulaire et l'embryologie.

Un programme de recherche concerne notamment la mise au point d'une sonde moléculaire du chromosome Y permettant de distinguer le sexe de l'embryon. Il est mené en collaboration avec le CEA et l'Institut Pasteur, notamment.

Citons aussi l'application de ces recherches à la conservation de cellules par le froid. Cette technique, dont la mise au point nécessite des approches biophysiques et de biologie cellulaire, concerne le contrôle de la reproduction in vitro et la conservation des espèces.

Identification d'agents pathogènes, nouveaux vaccins

Le contrôle génétique de la résistance aux maladies infectieuses et l'identification de marqueurs génétiques permettant de prédire le comportement d'animaux soumis à une infection, représentent aussi un enjeu important.

Ces développements ne peuvent s'effectuer sans une connaissance précise des virus, bactéries et parasites des animaux. C'est ainsi qu'un nombre important de chercheurs a été regroupé (31 personnes) pour étudier à l'aide de techniques de biologie et génétique moléculaire, les agents pathogènes, la mise au point de nouveaux vaccins et, plus fondamentalement, les cellules de l'immunité animale. Déjà l'emploi d'anticorps monoclonaux ou de sondes d'acides nucléiques permet de caractériser avec précision la nature de certaines bactéries et virus infectieux.

En outre, il s'agit, avec la mise au point de nouveaux vaccins dits « recombinants », en préparation dans les laboratoires de viro-immunologie, de pouvoir différencier animaux infectés et vaccinés afin de mener de front des opérations de vaccination et d'éradication des endozooties chez les mammifères et les poissons.

Transferts de gènes et animaux transgéniques

Des recherches menées sur la lactation ont permis de recueillir un ensemble important de données sur les contrôles génétiques de la synthèse de protéines du lait et la régulation de l'activité de la cellule mammaire. Il s'agit maintenant de faire s'exprimer des gènes d'autres protéines que celles du lait dans ces cellules. Les travaux vont se faire en collaboration avec des industriels français et étrangers en vue de produire des molécules spécifiques.

D'une façon plus large, le transfert de gènes et la création d'animaux transgéniques représenteront un point central de l'activité des unités de génétique, pathologie et physiologie décrite précédemment. Les informations obtenues à partir d'animaux créés par cette nouvelle méthodologie présentent, en effet, un intérêt remarquable pour la recherche fondamentale. Des collaborations avec l'Université de Lyon, l'Institut Pasteur, le CNRS sont en cours. Une unité commune de transfert de gènes chez la souris et la lapine a été créée à Jouy, entre les départements de physiologie et de génétique, dans le but de tester l'expression des gènes de caséines introduits dans des lignées cellulaires et chez les animaux eux-mêmes, sous l'influence de différents promoteurs.

Un pôle de microbiologie

L'introduction de gènes étrangers dans une cellule ne peut pas se réaliser sans avoir une connaissance précise des mécanismes qui régleront son expression et la stabilité de la « greffe » moléculaire. C'est pourquoi un pôle important de recherches en microbiologie est créé dans le Centre, regroupant quarante chercheurs. L'orientation scientifique des unités le constituant est résolument fondamentale dans le domaine de la génétique microbienne. Les retombées de ces travaux dépasseront ce cadre car les thèmes choisis ont un intérêt pour l'industrie, l'agriculture et

la médecine. Il s'agit d'études de la stabilité du génome et du contrôle de l'expression de gènes sur des bactéries connues *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* et moins connues mais d'intérêt agro-alimentaire, les bactéries lactiques. Elles concernent également les interactions entre microorganismes (l'écologie microbienne).

Ce centre représentera ainsi l'un des principaux pôles français de recherches en microbiologie.

Coopérations et formation

L'INRA attache la plus grande importance au développement d'étroites collaborations scientifiques avec le monde de la recherche et de la formation. Le pôle d'excellence en biotechnologie que représente le centre permettra de nouer de nouvelles relations autour de programmes nationaux, européens ou spécifiques à l'Institut ainsi que de mettre en place des associations avec d'autres organismes de recherche (INSERM, CNRS, CEA) et des industriels... Ainsi une recherche en commun se poursuit avec le CEA dont un laboratoire est intégré dans le bâtiment des biotechnologies de Jouy.

Les laboratoires de cet ensemble participent déjà aux programmes lancés par les ministères de tutelle. Ils sont aussi associés aux programmes de la communauté européenne sur les biotechnologies.

La formation de jeunes chercheurs, l'accueil de stagiaires professionnels ou industriels ont déjà une réalité importante dans ce bâtiment.

Une complémentarité entre les programmes de ce centre et les autres activités de l'INRA est nécessaire. Ainsi à titre d'exemple les nouveaux vaccins devront être mis à l'épreuve sur des animaux entretenus à l'INRA Tours/Nouzilly et inversement des chercheurs qui auront à utiliser les techniques de génie génétique sur les bactéries pathogènes étudiées dans ce dernier centre seront formés à Jouy.

Pierre Mauléon
Directeur Scientifique des Productions animales
Directeur général adjoint chargé des questions scientifiques

Structures*

* Mesures prenant effet au 1/11/1989. Service Juridique et du Contentieux, N.S. nº 89-04, 6 janvier 1989.

Groupes d'activités

Les activités sont réparties en quatre groupes :

- Génétique microbienne, sous la direction de M. Ehrlich ;
- Virologie et immunologie moléculaires, sous la direction de M. Laporte jusqu'au 30 juin 1989 et sous celle de M. Laude à compter du 1er juillet 1989 ;
- Biologie cellulaire et moléculaire, sous la direction de M. Houdebine ;
- Génétique biochimique, cytogénétique, radiobiologie appliquée, sous la direction de M. Mercier.

Conseil de direction

Un Conseil de Direction du Bâtiment des Biotechnologies est créé. Il comprend les Directeurs des groupes d'activités ; son Président est nommé pour quatre ans par le Président Directeur Général de l'INRA.

M. Stanislav Dusko Ehrlich, Directeur de Recherche, est nommé Président du Conseil de Direction à compter du 1er janvier 1989.

Il appartient au Président du Conseil de Direction d'animer la vie scientifique, d'assurer la formation collective des techniciens et de régler la discipline de vie dans le bâtiment.

Conseil scientifique

Un Conseil Scientifique du Bâtiment des Biotechnologies est créé, composé :

- du Directeur Général Adjoint chargé des questions scientifiques, ou de son représentant ;
- du Président du Conseil de Direction du Bâtiment des Biotechnologies ;
- des Chefs des départements de physiologie animale, de génétique animale et de pathologie animale, ainsi que d'un représentant du Directeur scientifique chargé du Secteur des industries agricoles et alimentaires ;
- de quatre personnalités, extérieures à l'INRA, compétentes dans le domaine des biotechnologies.



Photo Gérard Paillard

Quelques données sur les biotechnologies à l'INRA

Effectifs : 975 personnes dont 375 scientifiques.

Budget total 1987 : 350 millions de francs.

Principaux programmes et implantations des laboratoires :

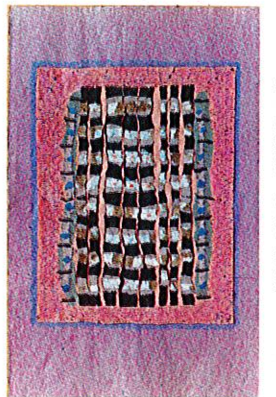
Productions végétales et Milieu physique :
- Biologie cellulaire et moléculaire végétale : Versailles, Orsay, Dijon, Clermont-Ferrand, Orléans ;
- Relations plantes-microorganismes : Toulouse, Antibes, Bordeaux, Versailles, Dijon ;
- Relations plantes-insectes : Saint-Christol-les-Alès, Antibes.

Productions animales :
- Biologie cellulaire et moléculaire animale : Jouy, Tours, Toulouse, Lyon ;
- Immunologie, virologie, vaccins : Tours, Jouy ;
- Ecologie microbienne : Jouy, Theix.

Industries de transformation :
- Génétique des microorganismes, Jouy, Grignon ;
- Microbiologie industrielle : Jouy, Montpellier, Nantes, Rennes, Lille ;
- Génie enzymatique : Nantes, Rennes ;
- Génie industriel : Grignon, Rennes, Lille.

Chargé de mission pour les Biotechnologies auprès du Président-directeur général : André Berkaloff.

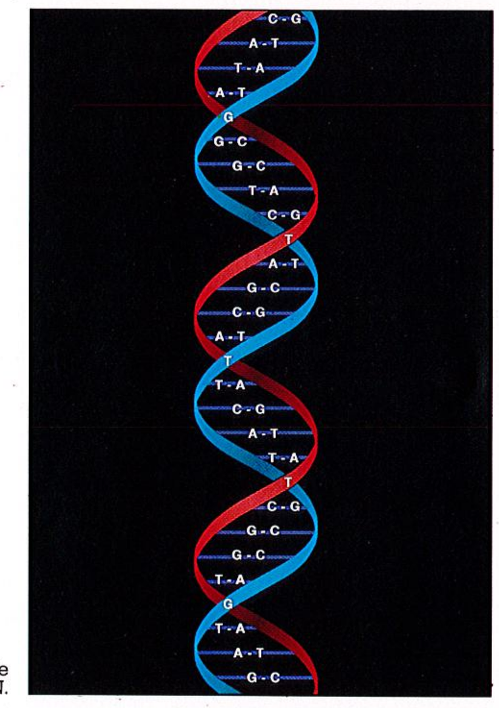
Signalisation de la génétique microbienne par Michel Henri Viot.



Stabilité de l'information génétique

Un être vivant est défini, en grande partie, par l'information génétique qu'il contient. Les changements de cette information affectent l'être lui-même ainsi que tous ses descendants. Ils concernent tout organisme vivant et jouent un rôle central dans l'évolution de la matière vivante, dans le développement des maladies mortelles, telles que le cancer ou la myopathie, dans l'utilisation de la biotechnologie, dont ils ralentissent le progrès. Malgré leur importance, ces remaniement sont très mal connus. Quels sont les processus qui changent d'une façon si abrupte l'information génétique ? Comment connaître, comprendre, peut-être modifier ces processus mystérieux ? Quels peuvent être les mécanismes correcteurs ?

Un être vivant est défini en grande partie par son information génétique.



Petite partie d'une molécule d'ADN.

Un être vivant est défini en grande partie par son information génétique. Cette information est contenue dans l'ADN, une molécule géante composée de deux longues chaînes, enroulées l'une sur l'autre en une hélice double. Le long de ces chaînes se trouvent quatre unités chimiques, les bases nucléiques, adénine, guanine, cytosine et thymine. Chacune de ces bases représente une lettre de l'alphabet génétique. L'enchaînement des lettres forme les mots, les phrases, les chapitres du livre biologique qui définit un être vivant. Ce livre peut être gigantesque ; l'information génétique qui définit une bactérie telle que *Escherichia coli* contient 5 millions de caractères, celle qui définit l'homme en contient quelque 3,5 milliards.

Cette information est sans cesse traduite et reproduite.

Cette information est sans cesse traduite et reproduite.

L'information génétique est **traduite** (on dit « exprimée ») en protéines. Les protéines sont des molécules composées de vingt acides aminés, liés en chaînes de dizaines, centaines ou même milliers d'unités. Ces molécules ont des propriétés chimiques remarquables, car elles sont capables de créer la multitude de structures et de catalyser la multitude de réactions nécessaires à l'existence de la vie. Ces propriétés sont déterminées par l'enchaînement précis des acides aminés et peuvent être altérées, voire détruites, par le changement d'un seul de ces éléments. L'enchaînement des acides aminés d'une protéine est inscrit dans l'information génétique. En effet, chaque acide aminé est déterminé par une suite de trois bases nucléiques (appelée « triplet » ; plusieurs triplets peuvent déterminer le même acide aminé). Cette correspondance est connue sous le nom de **code génétique.** Au cours de la traduction de l'information génétique en protéines, une succession de triplets est convertie en une succession d'acides aminés.

Changements de l'information génétique

L'information génétique est **reproduite** (on dit « répliquée ») avant d'être transmise des parents aux descendants.

Chaque changement de l'information sera hérité par toute la descendance d'un organisme unicellulaire, tel qu'une bactérie ; en revanche, chez les organismes multi-cellulaires, seuls

Quels sont les processus qui changent d'une façon très brusque l'information génétique ? Comment connaître, comprendre et peut-être modifier ces processus ?

les changements affectant des cellules germinales pourront être transmis aux descendants. Deux types de changements de l'information génétique peuvent se produire. Le premier, nommé mutation ponctuelle, concerne une ou, tout au plus, quelques bases, et correspond soit au remplacement d'une base par une autre, soit à la perte ou à l'acquisition d'une ou quelques bases. Le deuxième, appelé remaniement génomique, peut concerner des milliers de bases, et correspond à la perte ou à la duplication, ou encore à la translocation, de grands segments du génome. En clair, ces deux changements de l'information génétique peuvent altérer ou faire totalement disparaître une ou plusieurs protéines normalement présentes dans une cellule vivante. De telles altérations ou disparitions affectent souvent les caractéristiques de l'individu chez qui elles ont lieu, d'où leur importance pour l'évolution, la sélection, la médecine, la biotechnologie.

Fréquence des changements

La fréquence des deux types de changements est très différente. Chez *E. coli,* les mutations ponctuelles affectent une bactérie sur un million ; tandis que les remaniements génomiques sont cent fois plus fréquents. Chez d'autres bactéries, des *streptomycetes,* ces remaniements peuvent être encore plus fréquents, et affecter une cellule sur cent.

Chez l'homme, un individu sur mille porte dans ses cellules germinales des chromosomes remaniés, dont héritent ses descendants. De plus, chacun de nous possède dans le corps près d'un pourcent de cellules dont les chromosomes sont anormaux. Encore chez l'homme, les remaniements génomiques jouent un rôle important dans le développement des maladies graves, telles que le cancer ou la myopathie.

Quels sont les processus qui changent d'une façon très brusque l'information génétique ? Comment connaître, comprendre et peut-être modifier ces processus ?

Une grande partie des recherches de notre laboratoire est consacrée à ces questions, et une réponse cohérente commence à émerger de ces recherches.

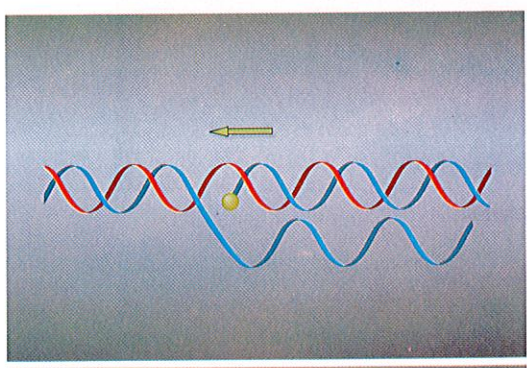
Origine des changements

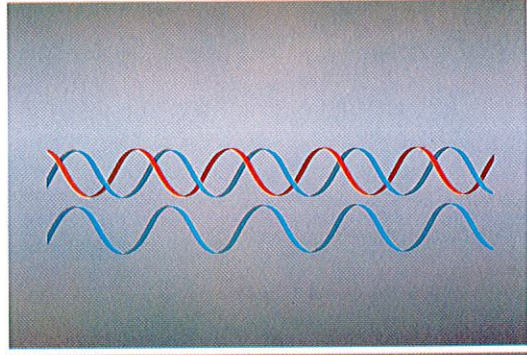
Il est bien connu que les mutations ponctuelles peuvent résulter de l'action d'agents physiques (rayonnements X, ultra violets) ou chimiques (substances dites mutagènes) extérieurs à la cellule. En l'absence de tels agents, ces mutations se produisent surtout par erreur de reproduction de l'ADN. Tout un ensemble de mécanismes cellulaires existe pour corriger ces erreurs et contribue ainsi à préserver l'information génétique. Qu'en est-il des remaniements génomiques ?

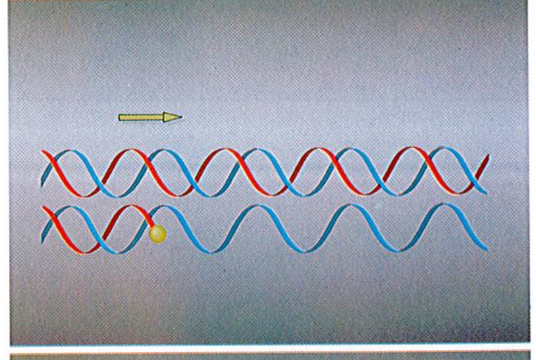
Nous avons observé chez *E. coli* que ces remaniements se produisent fréquemment, tout comme les mutations ponctuelles, pendant la réplication de l'ADN. Pour répliquer l'ADN, il faut d'abord séparer l'une de l'autre les deux chaînes qui le composent. Ces chaînes sont complémentaires, à chaque guanine d'une chaîne correspondant une cytosine de l'autre et à chaque adénine, une thymine. Lors de la réplication, chaque chaîne sert de matrice pour la synthèse de la chaîne complémentaire. Cette synthèse procède par addition successive de bases à l'extrémité de la chaîne naissante. Normalement, la synthèse génère deux molécules d'ADN identiques, chacune contenant une chaîne matrice et une chaîne néo-synthétisée.

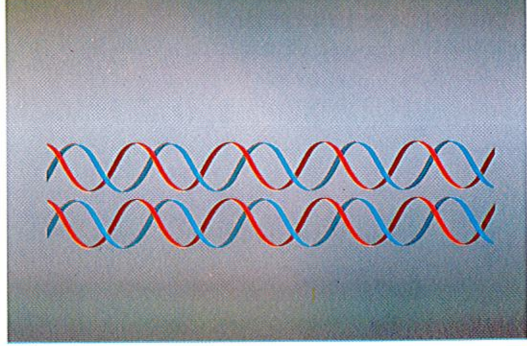
Réplication normale d'une molécule d'ADN.

Le complexe enzymatique qui réplique l'ADN est représenté par la sphère verte ; la direction de la réplication est indiquée par la flèche. L'une des deux chaînes d'ADN est répliquée d'abord ; l'autre ensuite ; deux molécules d'ADN identiques sont ainsi générées. Le processus est représenté d'une façon schématique : seule une petite partie de la molécule d'ADN est montrée ici et dans les dessins suivants.









La chouette, symbole d'Athéna déesse de la Connaissance.

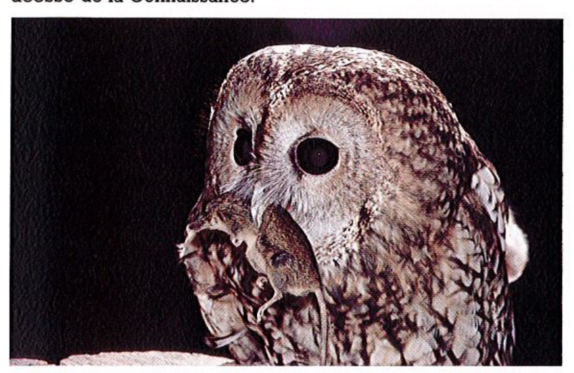


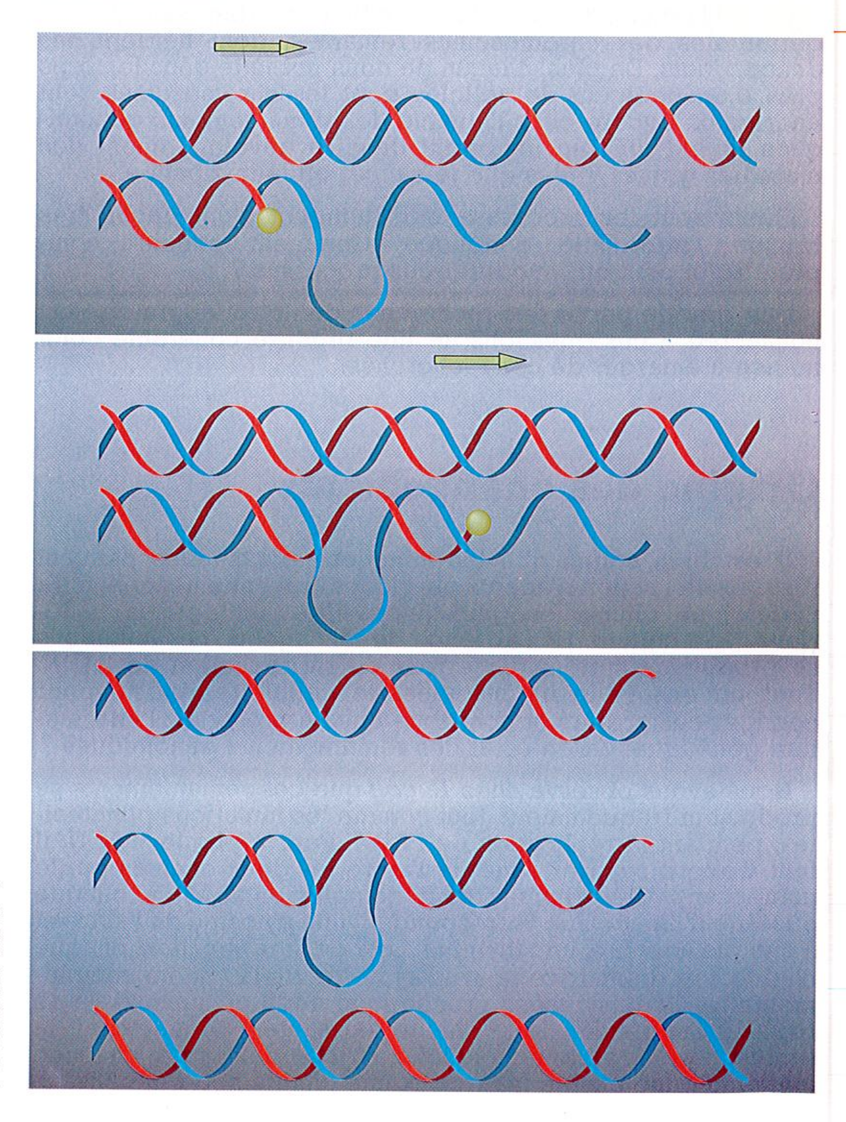
Photo Gérard Blondeau

Les erreurs de réplication qui résultent en des remaniements correspondent au glissement de l'extrémité de la chaîne naissante le long de la chaîne matrice. L'addition de base à l'extrémité ainsi déplacée peut, par exemple, produire une molécule d'ADN qui contient une chaîne matrice normale et une chaîne néo-synthétisée plus courte. Au cours de la réplication suivante, la chaîne plus courte est utilisée comme matrice, ce qui génère une molécule d'ADN qui porte une délétion et ne contient donc qu'une partie de l'information génétique originale. Il est aisé d'imaginer d'autres types de glissements des chaînes au cours de la réplication d'ADN, produisant des remaniements génomiques plus complexes que les délétions, tels que les duplications et les translocations. Il est également facile d'imaginer que des erreurs semblables à celles mises en évidence chez *E. coli,* se produisent également chez d'autres organismes. Un examen expérimental est nécessaire pour tester ces hypothèses.

Les délétions résultant du glissement des chaînes d'ADN au cours de la réplication peuvent être très fréquentes. Dans les conditions expérimentales qui les favorisent, elles se produisent dans un temps très court (2-3 générations) dans chaque individu d'une population bactérienne.

En clair, si les délétions étaient, d'ordinaire, si fréquentes, la vie serait impossible, car l'information génétique ne pourrait pas être préservée. Ce raisonnement indique que les cellules doivent avoir des outils pour corriger les glissements des chaînes d'ADN.

Des fonctions qui corrigent des erreurs grossières de reproduction de l'ADN existent.



Réplication aberrante d'une molécule d'ADN.

Un glissement de l'extrémité néo-synthétisée se produit lors de la réplication. Il en résulte une molécule d'ADN aberrante dont les deux chaînes n'ont pas la même longueur. La reproduction normale de cette molécule donnera deux molécules filles, l'une plus longue contenant toute l'information génétique, l'autre plus courte n'en contenant qu'une partie.

Mécanismes correcteurs

Nous avons identifié chez *E. coli* l'un de ces outils. Il s'agit d'une enzyme, nommée hélicase, qui peut séparer les chaînes d'ADN. La séparation permet à l'extrémité de la chaîne néo-synthétisée, déplacée par glissement, de retrouver sa position normale avant que des bases additionnelles aient pu lui être ajoutées. Mille fois moins de délétions se produisent dans une cellule qui renferme de larges quantités d'hélicase que dans une cellule qui en est dépourvue. Ainsi, l'hélicase contribue à la préservation de l'information génétique.

D'autres enzymes correctrices existent également chez *E. coli.* Une enzyme complexe, composée d'au moins trois sous-unités différentes, appelée RecBCD en est un. Cette enzyme possède les propriétés d'une hélicase, ainsi que d'une nucléase (enzyme de dégradation des acides nucléiques). Elle corrige un certain type de glissement, mais l'on ne sait pas très clairement à l'heure actuelle laquelle de ces activités (hélicase, nucléase) est la plus importante dans ce processus.

L'existence d'un troisième type de mécanisme correcteur, dont le mode d'action reste à identifier, est suggérée par des observations récentes. Ces faits confirment une règle générale bien connue : chaque processus vital pour la cellule (la réparation d'erreurs de réplication, dans le cas présent) peut être accompli par des voies multiples.



Des retombées fondamentales et pratiques

Quelles sont les retombées fondamentales et pratiques de la recherche sur la stabilité génétique ? Les travaux présents mènent à un concept général, d'importance fondamentale.

Des fonctions qui corrigent des erreurs grossières de reproduction de l'ADN existent.

Elles ont été identifiées chez une bactérie ; il reste à les identifier chez d'autres organismes. Ces mécanismes sont essentiels pour l'existence de la vie telle que nous la connaissons.

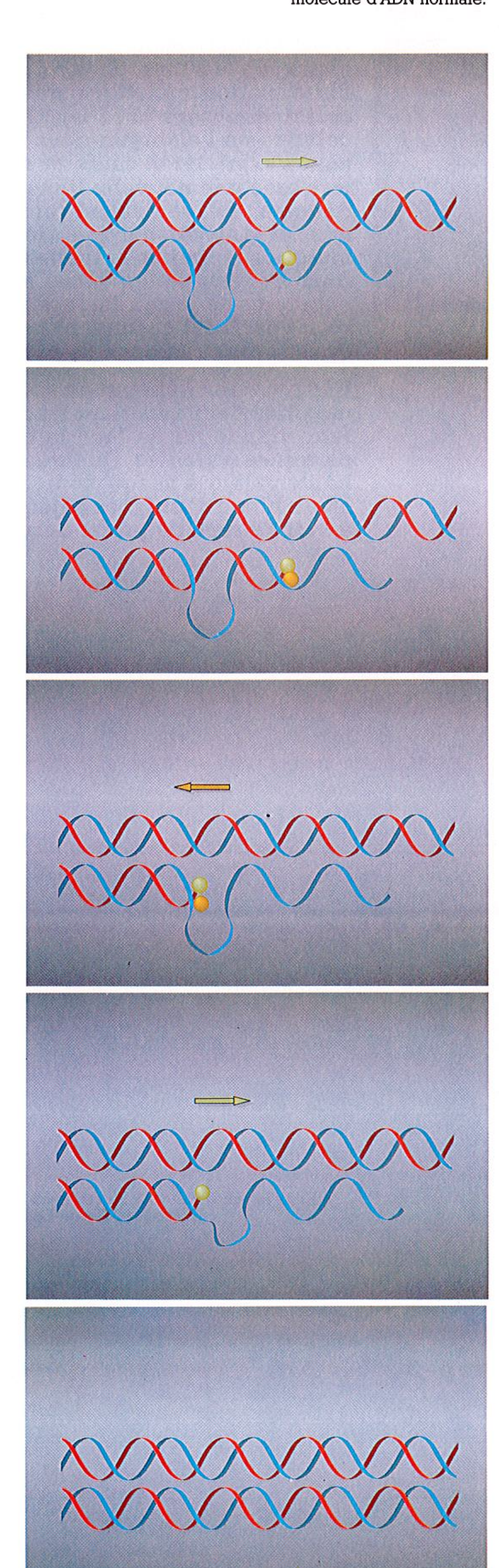
Sur le plan pratique, une fois établie la généralité du concept fondamental, il deviendrait possible de manipuler la stabilité des génomes en contrôlant les fonctions cellulaires adéquates. Rendre stables des gènes étrangers introduits dans un organisme est d'un intérêt certain pour la biotechnologie. Contrôler la stabilité génétique peut être important pour prévenir des maladies graves. Un grand chemin reste à parcourir avant d'atteindre pleinement ces objectifs, mais leur importance justifie, à nos yeux, l'effort consenti.

Il n'est évidemment pas possible de décrire dans ce texte bref toutes nos études, qui concernent soit la stabilité génétique, soit l'expression génique chez les bactéries lactiques, un autre pôle majeur d'intérêt au laboratoire. Elles ont principalement trait à la réplication, la recombinaison et l'amplification d'ADN ainsi qu'à l'organisation et au contrôle des gènes. Notre désir de communiquer est le garant qu'elles seront portées à la connaissance de toute personne de l'INRA intéressée.

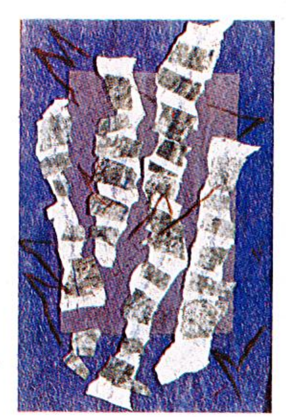
Dusko Ehrlich
Génétique microbienne

Correction des erreurs de la réplication

Le glissement de l'extrémité néo-synthétisée est corrigé par l'enzyme hélicase, représentée par la sphère orange. Cette enzyme sépare les deux chaînes d'ADN, ce qui permet à l'extrémité déplacée de retrouver sa position correcte. A la suite de cette correction, la réplication reprend et génère une molécule d'ADN normale.



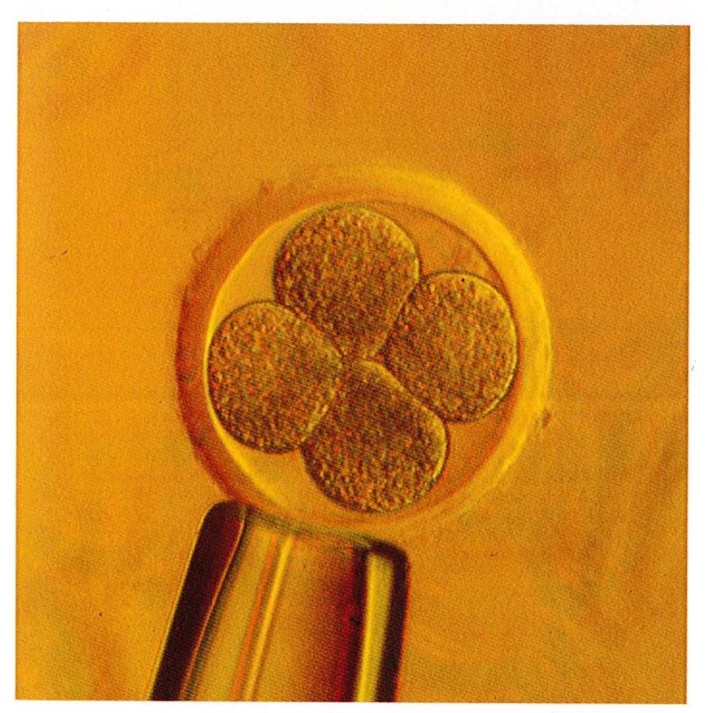
Signalisation de la physiologie de la lactation par Michel Henri Viot.



La transgenèse chez les animaux domestiques

Il est virtuellement désormais possible d'isoler n'importe quel fragment d'ADN d'un organisme, de le muter, de le réintroduire dans une cellule et de faire ainsi exprimer en protéine l'information génétique qu'il contient. Chez les Mammifères, les Poissons et dans une certaine mesure chez les Oiseaux, il est possible d'introduire un gène étranger dans les cellules de l'embryon dans les tout premiers stades du développement. Ce gène étranger peut s'exprimer et conférer ainsi à son hôte un nouveau caractère génétique. On a donc dès lors créé une nouvelle lignée d'animaux. Cette opération, que l'on nomme transgenèse, est délicate : 1 % seulement (et souvent moins) des embryons manipulés deviennent transgéniques et le niveau d'expression du transgène est le plus souvent imprévisible. Cette technique malgré ses limites actuelles a déjà apporté un nombre considérable d'informations sur le fonctionnement des gènes au cours du développement. Aucune application véritable n'a encore vu le jour à l'heure actuelle en raison de difficultés techniques non complètement résolues. Il est cependant peu douteux que d'ici la fin de ce siècle des animaux transgéniques seront à la base de nouveaux schémas de sélection génétique.

Ces animaux génétiquement manipulés auront certains de leurs équilibres physiologiques modifiés pour accélérer leur croissance, augmenter leur prolificité, améliorer la qualité de leur viande ou de leur lait, etc. Ils auront acquis une résistance définitive vis-à-vis de certaines maladies. Quelques uns d'entre eux synthétiseront en abondance des protéines de haute valeur à usage médical ou vétérinaire, qui seront récupérées à partir du sang, du lait ou du blanc d'œuf. Les enjeux sont donc de toute évidence considérables et il faut s'attendre à voir ce type de projet devenir progressivement une réalité.



Embryon au stade « quatre cellules ». Photo Jean-Pierre Ozil

Le rôles des gènes

En inventant l'agriculture et l'élevage, nos ancêtres ont commencé à maîtriser les lois de l'hérédité et à en tirer empiriquement profit. La découverte des lois de Mendel a permis de rationaliser la sélection génétique des organismes vivants sans même que l'on sache au niveau cellulaire et moléculaire quels mécanismes étaient impliqués dans l'expression de tel ou tel caractère génétique. Ce n'est que progressivement qu'a été révélé le rôle des chromosomes puis des protéines. Depuis plusieurs dizaines d'années, il est admis que ce sont essentiellement les protéines qui sont douées d'un pouvoir catalytique spécifique, et qui donc expriment dans la cellule les messages contenus dans les gènes. La filiation entre la structure fine d'un gène (qui est un polymère de nucléotides formant un acide désoxyribonucléique) et la structure fine d'une protéine (qui est un polymère d'acides aminés), est désormais bien établie. Le code génétique qui permet le passage de l'information génétique de l'acide nucléique à la protéine correspondante est bien connu et on sait qu'il est pour l'essentiel universel pour tous les êtres vivants. Cette connaissance en soi, bien qu'essentielle, n'a pas permis pendant longtemps de modifier le vivant. En effet, la sélection génétique classique est entièrement tributaire des caprices de la nature qui décide, selon des processus incontrôlables, de modifier tel ou tel gène et donc d'altérer le caractère génétique dont il dépend. Le sélectionneur ne peut donc au mieux que repérer ces modifications et conserver celles qui lui paraissent intéressantes. Cette approche qui a largement prouvé son efficacité a donc par essence des limites que l'on peut tenter de franchir par la transgenèse.

L'isolement des gènes

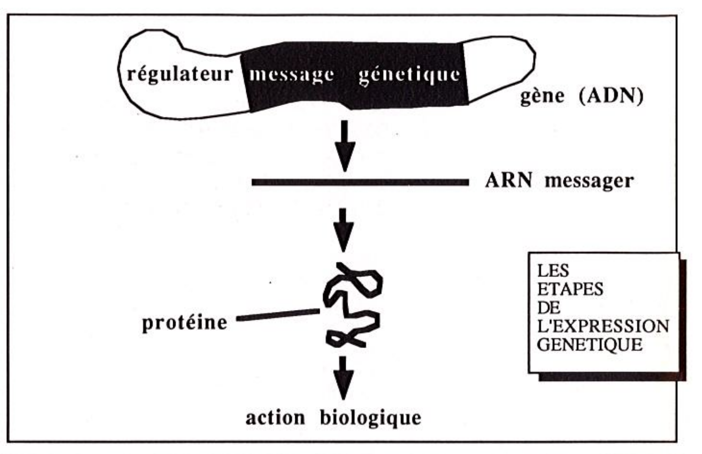
Les techniques actuelles de biologie moléculaire permettent virtuellement d'isoler n'importe quel fragment d'ADN, donc n'importe quel gène, d'un organisme vivant. Un gène se compose dans tous les cas de deux éléments structuraux joints : l'un contient le message génétique proprement dit et qui est traduit en protéine selon les règles du code génétique ; l'autre contient des éléments régulateurs qui déterminent les situations dans lesquelles le gène doit ou non s'exprimer. En effet, tous nos gènes sont dans toutes nos cellules et pourtant leur

expression est spécifique de chaque catégorie de cellule. La structure des éléments régulateurs est fondamentalement la même que celle du message génétique puisqu'elle est constituée des 4 mêmes nucléotides polymérisés. Si le code génétique est bien connu (3 bases de nucléotides associées en codon signifiant un acide aminé défini), le code qui définit le fonctionnement des éléments régulateurs n'est que très partiellement décrypté. Les deux éléments fonctionnels d'un gène sont donc comme deux langues différentes utilisant le même alphabet.

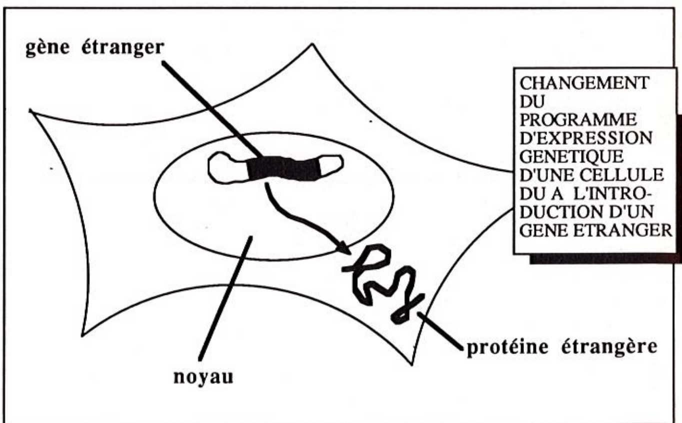
Il est virtuellement possible d'isoler n'importe quel gène et de l'introduire dans une cellule.

La mutation des gènes

Il est possible d'apporter n'importe quelle modification structurale dans un gène, en changeant l'ordre des nucléotides. Une mutation réalisée dans la région où se trouve le message génétique changera la structure de la protéine correspondante et donc virtuellement un caractère génétique. Une mutation dans la région régulatrice pourra modifier le taux d'expression du gène sans changer la nature du message proprement dit. Il est également possible de fragmenter *in vitro* un gène avec des enzymes spécialisés (les enzymes de restriction) et d'assembler ces éléments selon un ordre différent, de la même manière qu'il est possible de découper et de réassembler les morceaux d'une bande magnétique sur laquelle est stocké un son ou une image. Un gène peut enfin être réintroduit dans une cellule et s'y exprimer. Le code génétique étant universel, une protéine de bactérie, de virus ou de plante pourra être synthétisée dans une cellule animale à partir du gène correspondant dès lors qu'auront été greffés à ce gène des éléments régulateurs compris par cette cellule, et réciproquement.



LES ETAPES DE L'EXPRESSION GENETIQUE



CHANGEMENT DU PROGRAMME D'EXPRESSION GENETIQUE D'UNE CELLULE DU A L'INTRODUCTION D'UN GENE ETRANGER

L'expression des gènes

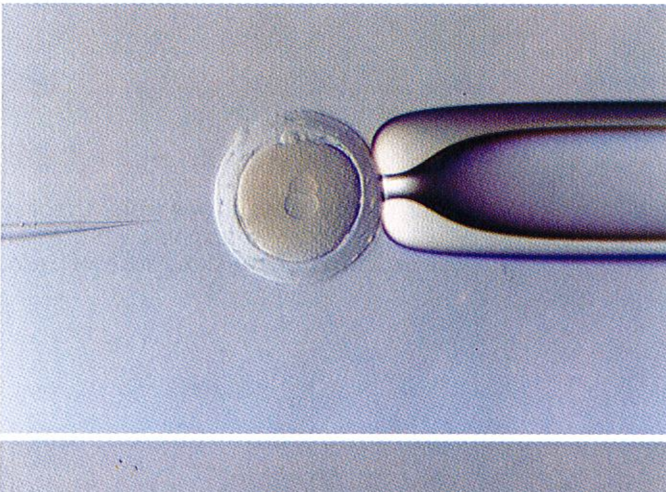
La réintroduction d'un gène dans une cellule est une pratique courante dans les laboratoires. Elle permet d'étudier le rôle et le mode de fonctionnement des gènes. Elle est désormais utilisée par les industries pharmaceutiques qui commencent à produire en masse des protéines ayant un intérêt thérapeutique et qu'il est difficile de produire à partir des organes animaux (hormone de croissance, interféron, facteurs de croissance, insuline,...). Une cellule abritant un gène étranger actif peut être réintroduite chez un individu à qui il manque une protéine fonctionnelle ; on a alors réalisé une thérapie génique. Cette opération s'apparente à la pose d'une prothèse ou à la greffe d'un organe. Elle n'altère en rien le patrimoine génétique de l'individu puisque ses cellules germinales ne sont pas concernées. La thérapie génique est à l'étude chez l'animal depuis plusieurs années et elle sera vraisemblablement tentée prochainement chez l'homme. Elle n'est que difficilement envisageable en routine chez l'animal domestique, étant donné sa complexité et son coût.

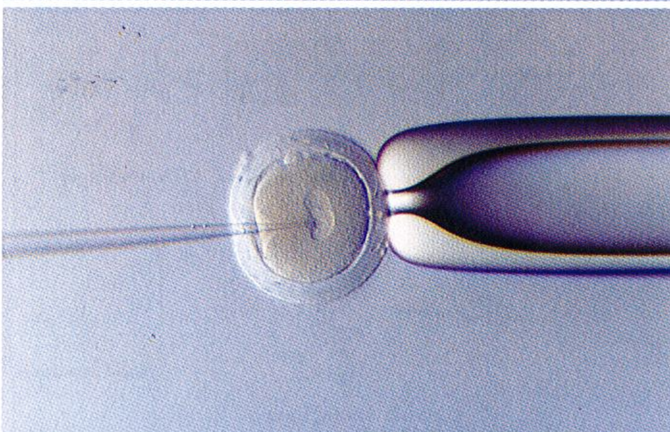
Pour être transmis à la descendance un gène doit être intégré d'une manière ou d'une autre aux cellules germinales. La méthode radicale consiste évidemment à s'adresser à la première cellule de l'embryon dont découleront toutes les cellules de l'individu au cours de son développement. Cette opération est la transgenèse.

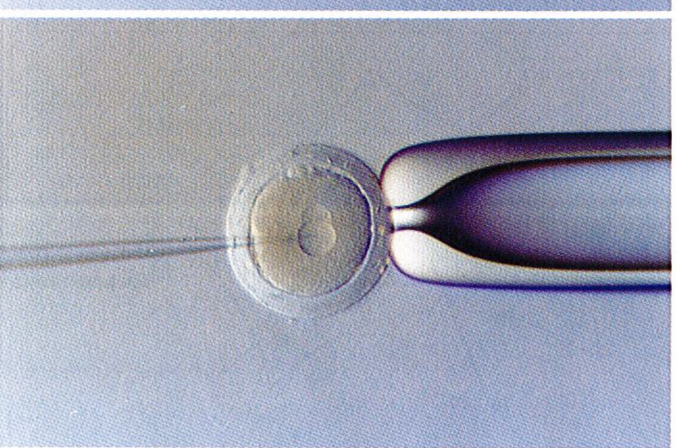
Les méthodes de transgenèse

Les méthodes de transfert de gène utilisées au laboratoire sont relativement peu efficaces puisque le plus souvent pas plus d'une cellule sur 100.000 ne garde le gène étranger. Elles

Aucune méthode de transgenèse n'est actuellement efficace. La micro injection reste la plus utilisée.







1 Embryon de lapin maintenu par une pipette en verre dans le champ d'un microscope (x 200). On distingue, accolés au centre de l'embryon, les deux pronoyaux parentaux. Le plus petit, en haut, est issu de l'ovocyte. Le plus gros, en dessous est issu du spermatozoïde. L'embryon est enfermé dans une zone pellucide sur laquelle on distingue encore de nombreux spermatozoïdes.
2 L'opération de microinjection consiste à introduire une aiguille en verre à l'intérieur de l'un des pronoyaux ; ici, le pronoyau mâle.
3 L'injection d'une solution contenant des gènes dilate le pronoyau.
Photos Jean-Pierre Ozil

ne sauraient donc s'appliquer aux embryons qui sont des cellules rares et d'un coût élevé. Essentiellement trois approches ont été retenues pour obtenir des animaux transgéniques :

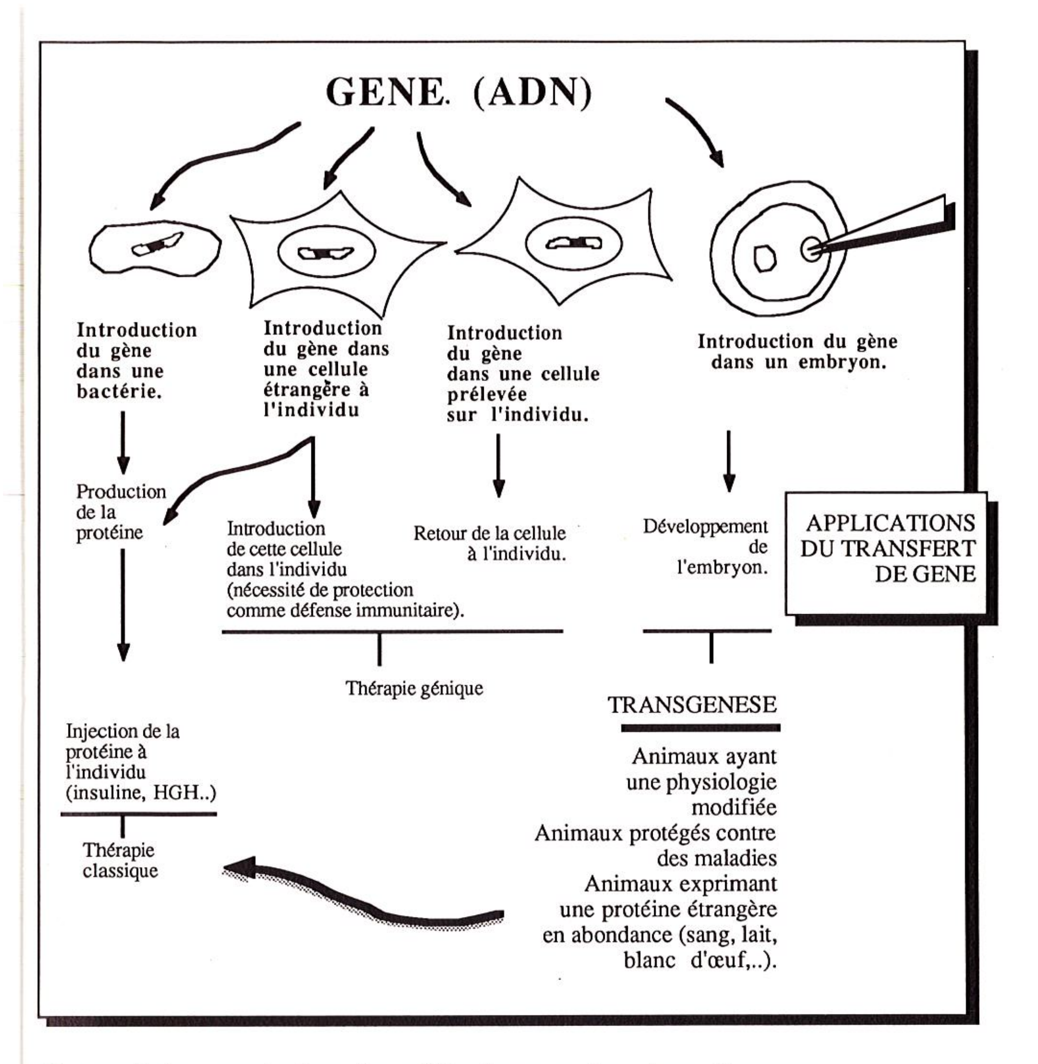
1°) **La microinjection.** La microinjection du gène se fait en général directement dans le pronoyau mâle (apporté par le spermatozoïde). Cette méthode, quoique laborieuse et relativement peu efficace, est la seule utilisée en routine chez les mammifères. Chez les vertébrés inférieurs et les invertébrés, une injection du gène dans la cellule embryonnaire conduit à l'obtention d'un taux relativement élevé d'animaux transgéniques. C'est cette méthode qui est utilisée au Centre de Jouy-en-Josas pour l'obtention de truites transgéniques. Chez l'animal de référence qui est la souris, environ un embryon seulement sur cent manipulés devient un adulte transgénique. Les manipulations multiples de l'embryon, prélèvement, microinjection, réintroduction dans l'oviducte d'une femelle adoptrice, sont la cause essentielle de ce mauvais rendement. Chez les animaux domestiques, les rendements sont au maximum égaux et le plus souvent inférieurs à ceux obtenus chez la souris. Il est donc clair que l'extension de cette technique aux gros animaux n'est pas simple étant donné le coût de chaque embryon et de leur manipulation. Cette technique, qui est sans doute perfectible, a donc déjà montré ses limites.

2°) **L'utilisation de vecteurs viraux.** Un virus est un petit assemblage de messages génétiques qui doivent pénétrer dans une cellule pour être exprimés. En effet, seule la cellule contient la machinerie de décodage. Un virus pour se multiplier doit pénétrer efficacement dans une cellule pour la parasiter. Les virus sont donc des vecteurs possibles pour des gènes étrangers. Une catégorie particulière de virus, les rétrovirus, a particulièrement retenu l'attention des chercheurs. Ces virus doivent en effet s'intégrer au milieu des gènes de la cellule infectée pour pouvoir se répliquer. Tout gène étranger inséré parmi les gènes du virus est donc susceptible d'être transféré ainsi dans la cellule infectée. Cette approche est celle retenue pour les oiseaux, chez lesquels les embryons se prêtent mal à la manipulation. L'INRA, associé au laboratoire du Professeur V.M. Nigon de l'Université de Lyon, s'est engagé dans cette voie.

L'utilisation de ces vecteurs n'est pas encore devenue une routine même si des progrès très substantiels ont été faits. Elle pose des problèmes spécifiques particulièrement délicats. Les virus vecteurs doivent à la fois avoir gardé un taux d'infectivité élevé, ne pas se propager et permettre une expression si possible contrôlée du gène étranger. Ces exigences plus ou moins contradictoires imposent que des études très approfondies soient menées pour que soient très précisément définies les conditions d'utilisation éventuelle des vecteurs rétroviraux.

3°) **L'utilisation des cellules souches embryonnaires.** Des études fondamentales conduites chez la souris ont permis d'isoler des lignées de cellules embryonnaires non différenciées. Ces cellules, réintroduites au travers des cellules d'un embryon précoce se multiplient et elles participent à la formation des organes de l'individu en développement qui devient alors un animal chimère et mosaïque. Les cellules germinales de cet individu qui dérivent des cellules étrangères artificiellement introduites, portent donc le patrimoine génétique de ces cellules. Les descendants de ces animaux seront homogènes et ils transmettront tous le patrimoine génétique de la lignée cellulaire d'origine.

Un gène étranger peut être introduit dans ces cellules en culture avant qu'elles ne soient réintroduites dans un embryon.



Ces cellules sont alors le véhicule pour le gène étranger. L'avantage de cette méthode réside dans le fait que l'opération délicate qu'est le transfert du gène étranger est réalisée *in vitro* dans des cellules en culture et non directement dans l'embryon. Seules les cellules qui portent le gène étranger sous une forme non altérée sont conservées et introduites dans l'embryon. Cette approche a été couronnée de succès chez la souris. Des lignées de cellules non différenciées de porcin et de bovin sont à l'étude dans plusieurs pays étrangers. De telles lignées permettraient de contourner la méthode de microinjection si peu adaptée à la transgenèse chez les gros animaux.

Le devenir des transgènes

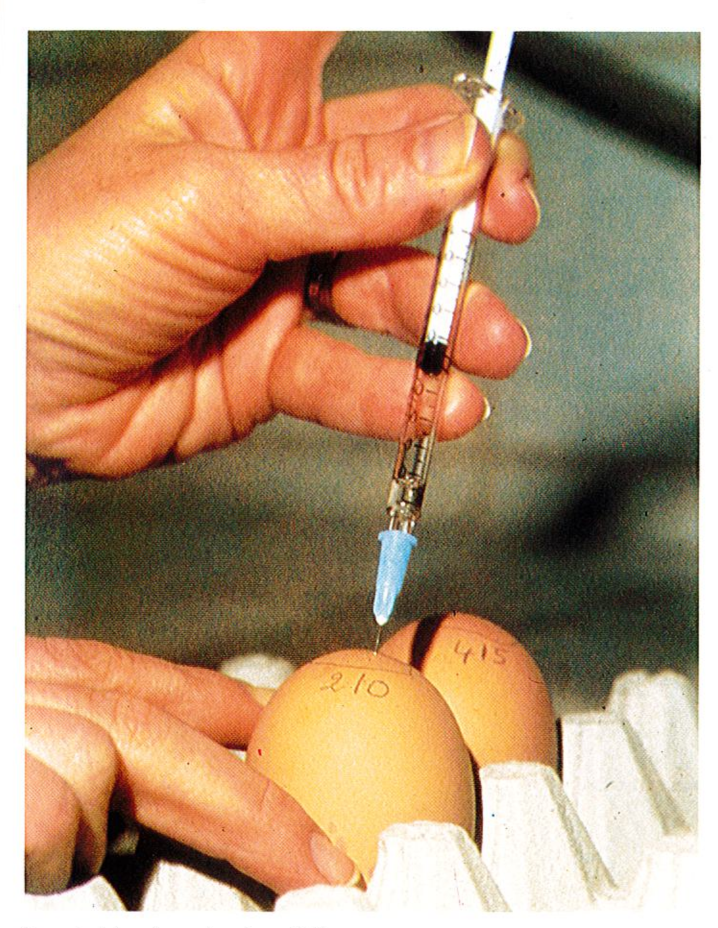
Les transgènes sont transmis selon les lois mendeliennes.

Les gènes introduits dans l'embryon s'insèrent dans des régions totalement imprévisibles du génome. Il est classique de trouver le même gène sur un chromosome différent chez les divers animaux transgéniques. Ces gènes sont transmis de manière stable selon les lois mendéliennes. Le taux d'expression des transgènes est assez imprévisible et il semble dépendre surtout de la région du génome dans laquelle ils se sont intégrés. Dans la plupart des cas un transgène s'exprime spécifiquement dans le tissu où il s'exprime normalement. Ainsi le gène de l'insuline humaine ne s'exprime dans une souris transgénique que dans les cellules pancréatiques et son expression est fortement stimulée, comme le gène de souris endogène, par le glucose. Un transgène qui possède tous les éléments régulateurs s'exprime donc souvent comme un gène normal, quelle que soit sa position dans le génome.

Les applications de la transgenèse ne seront que progressives.

Les applications de la transgenèse

1°) **La recherche fondamentale.** Les seuls vrais succès de la technique de transgenèse actuellement concernent des études fondamentales. Cette technique permet en effet d'aborder d'une manière nouvelle et particulièrement fructueuse l'étude des régions régulatrices des gènes, du rôle des



Transfert de gènes chez les volailles.
Photo Yves Salichon

gènes dans le développement embryonnaire et la différenciation cellulaire, ainsi que dans les processus de cancérogenèse, etc. Elle est devenue une routine, chez la souris, dans plus de cent laboratoires et son importance ne peut que croître dans les années à venir.

2°) **L'utilisation des animaux comme fermenteurs vivants.** De plus en plus de protéines à intérêt pharmaceutique ou vétérinaire vont être produites par des organismes vivants. Les bactéries qui abritent les gènes étrangers correspondants sont déjà utilisées industriellement à cet effet. Ces organismes ne peuvent cependant pas synthétiser toutes les protéines sous leur forme active. Des modifications spécifiques dans la structure de certaines protéines ne peuvent être apportées que par des cellules animales. De telles cellules en culture peuvent exprimer des gènes étrangers, mais le prix de revient de ce type de culture est encore trop élevé pour permettre un développement industriel. Des animaux transgéniques abritant un transgène programmé pour permettre à la protéine correspondante d'être sécrétée dans le sang, le lait ou le blanc d'œuf peuvent être virtuellement obtenus. Ces fluides biologiques aisément collectables en abondance peuvent être la source de protéines rares. De tels programmes de recherche se développent un peu partout dans le monde, et les laboratoires de biotechnologie du Centre de Jouy-en-Josas sont engagés dans des projets de ce type.

3°) **La protection des animaux contre les maladies.** Il est possible d'imaginer différentes méthodes permettant de bloquer à un point ou à un autre le cycle de réplication d'un virus. Un virus ne peut pénétrer dans une cellule que parce que la protéine de son enveloppe se lie à certaines molécules de la membrane de la cellule cible. Une cellule qui a reçu le gène codant pour la protéine de l'enveloppe virale et exprimant cette protéine, peut se trouver définitivement protégée contre une infection virale. En effet, la protéine enveloppe qui a une haute affinité avec les molécules membranaires de la cellule que reconnaît le virus, va se lier à ces molécules et occuper la place qu'occupe le virus lors de la première phase de l'infection. Un animal transgénique exprimant dans toutes ses cellules la protéine enveloppe d'un virus peut donc se trouver protégé définitivement, lui et sa descendance, contre ce virus.

Il est également possible d'imaginer apporter la protéine enveloppe d'un virus par l'intermédiaire du lait d'une femelle transgénique. Les récepteurs intestinaux au virus peuvent être alors saturés par la protéine enveloppe du lait qu'absorbe le jeune qui se trouve ainsi protégé contre une éventuelle infection.

D'autres approches plus subtiles sur le plan du mécanisme ont également été envisagées. Il est en effet possible de neutraliser l'expression d'un gène dans une cellule, donc l'expression d'un gène viral, en faisant s'exprimer en abondance un ARN ayant une structure complémentaire de l'ARN normal. En s'associant à l'ARN normal qui porte un message génétique, l'ARN anti-sens neutralise cet ARN et il ne permet donc plus au message génétique qu'il contient d'être exprimé. Un animal transgénique exprimant un gène anti-sens dirigé contre un gène viral peut se trouver protégé contre ce virus.

Certains animaux sont naturellement résistants vis-à-vis de certaines maladies et des gènes de résistance ont été identifiés. De tels gènes peuvent être réintroduits dans des embryons et ils sont susceptibles de protéger les animaux transgéniques qui les portent.

Ces quelques exemples ne représentent qu'une partie de ce qui peut être imaginé dans ce domaine.

4°) **La création de races ayant des caractéristiques génétiques nouvelles.** Il est facile d'imaginer obtenir des animaux transgéniques qui ont acquis des caractéristiques génétiques nouvelles intéressantes pour l'élevage. Les gènes qui modifient la physiologie des animaux peuvent contrôler directement la synthèse d'hormones ou être impliqués dans la synthèse d'enzymes du métabolisme par exemple. Le transfert de tels gènes peut effectivement conférer de nouvelles propriétés aux animaux. Ainsi ont pu être obtenues des souris dont la taille est deux fois celle des animaux normaux. Ces souris transgéniques expriment en abondance un gène d'hormone de croissance. Cette expérience qui est un incontestable succès sur le plan biochimique est un échec non moins contestable sur le plan physiologique. Les souris géantes sont en effet en mauvaise santé, en raison de l'expression excessive du gène étranger. Des porcs et des moutons transgéniques exprimant un gène d'hormone de croissance ont également été obtenus. Ces animaux n'ont pas eu de croissance véritablement accélérée ou augmentée, et leur santé était le plus souvent altérée. Cet exemple met en évidence toutes les difficultés d'une telle entreprise. Il est en effet très délicat de modifier utilement de manière définitive la physiologie d'un organisme pluricellulaire. L'expression d'une fonction biologique est le résultat d'équilibres subtils qu'on ne peut modifier d'une manière quelconque. Une telle entreprise suppose que l'on connaisse parfaitement les gènes impliqués dans le contrôle de la fonction biologique que l'on veut modifier, ainsi que les conséquences de la sous-expression ou de la sur-expression de ces gènes. Il est par ailleurs nécessaire de pouvoir contrôler l'expression du transgène d'une manière simple et fiable. Ces conditions ne sont réunies dans aucun des cas étudiés jusqu'à maintenant.

L'obtention de races nouvelles par la transgenèse se heurte aussi à un manque de connaissances fondamentales sur le rôle et le fonctionnement des gènes.

Les perspectives de la transgenèse

Les biologistes et les biotechnologistes ne sauraient plus se passer de la transgenèse. Les véritables succès de ces techniques pour ce qui est des applications sont encore à venir, mais il ne peut plus faire de doute qu'ils viendront. Les premiers problèmes qui seront résolus sont très vraisemblablement ceux relatifs à la production de protéines étrangères dans des fluides biologiques (sang, lait, blanc d'œuf). Les autres problèmes ne trouveront que progressivement une solution. Il est clair qu'en ce qui concerne les animaux domestiques des techniques doivent être mises au point pour améliorer le rendement de transgenèse. L'étude fondamentale des gènes et de leurs éléments régulateurs est tout aussi importante. Les animaux domestiques ayant des caractéristiques génétiques nouvelles n'arriveront probablement pas de manière massive dans les élevages avant la fin de ce siècle. Les techniques modernes de reproduction et le clonage des animaux qui commence à se développer accélèreront la diffusion des transgènes dans les troupeaux. Quoiqu'il en soit, tout le monde s'accorde pour penser que la transgenèse chez les animaux domestiques ne sera couronnée de succès qu'après un effort humain et financier important et suivi.

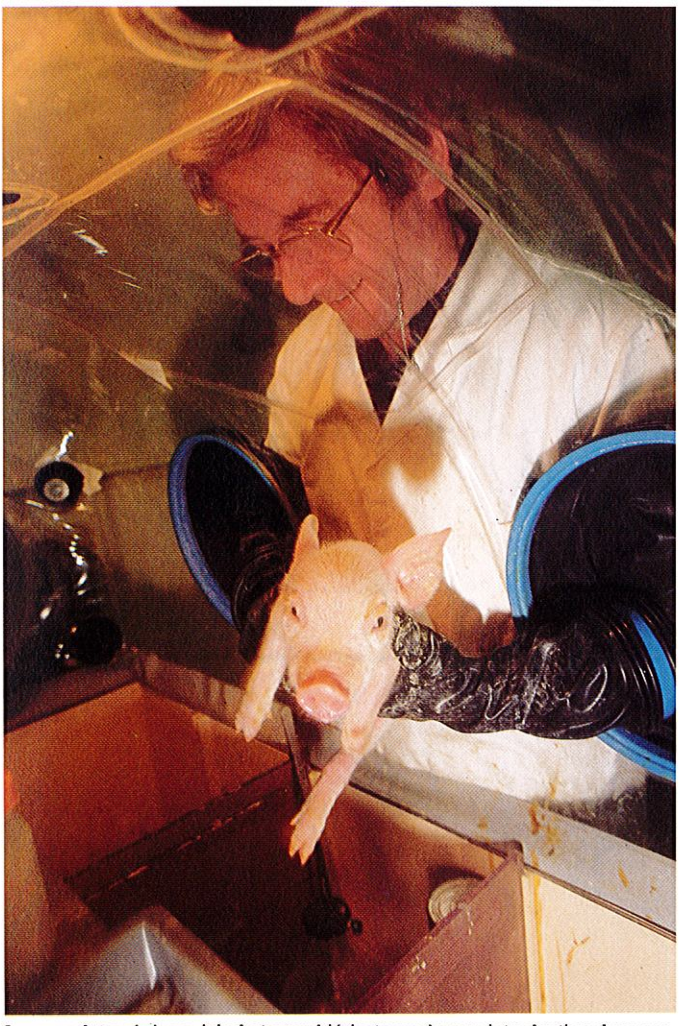
Les nouvelles races ne seront pas dans les fermes avant la fin du siècle.

Louis-Marie Houdebine
Physiologie de la lactation

Signalisation de l'Ecologie microbienne
par Michel Henri Viot.

Ecologie microbienne du tube digestif

L'homme et tous les animaux d'élevage abritent dans leur tube digestif une masse énorme de bactéries : un homme adulte véhicule cent mille milliards de bactéries vivantes dans son tube digestif, alors que l'ensemble de son organisme n'est composé que de dix mille milliards de cellules. Cette flore bactérienne du tube digestif composée d'un nombre très élevé d'espèces bactériennes différentes est encore imparfaitement connue, chez l'homme comme chez les animaux domestiques, mais on sait qu'elle exerce des effets physiologiques nombreux sur l'hôte qui l'héberge. Certaines de ces bactéries peuvent produire des métabolites nuisibles à l'hôte, comme des toxines, d'autres des métabolites utiles, par exemple des vitamines. L'équilibre de la flore est susceptible de varier au profit des souches nuisibles dans certaines circonstances telles que l'ingestion d'antibiotiques ou une modification du régime alimentaire. On assiste alors à l'apparition de manifestations pathologiques se traduisant souvent par des diarrhées, parfois mortelles.



Le porcelet axénique, ici photographié juste après son introduction dans son isolateur, constitue un outil de choix pour étudier la flore du nouveau-né. Photo INRA

Cette flore intestinale représente une barrière extrêmement efficace contre l'invasion de l'intestin par des bactéries venant de l'environnement.

De nombreuses substances sont produites par les bactéries dans les parties distales de l'intestin, là où le nombre de cellules vivantes est compris entre dix et cent milliards par gramme de contenu intestinal, à partir des aliments et des substances endogènes sécrétées ou excrétées qui ont échappé à la digestion dans l'intestin grêle. Certaines de ces substances peuvent exercer une activité physiologique loin de leur site de production parce qu'elles traversent la paroi intestinale et sont véhiculées par le sang et la lymphe dans tout l'organisme de l'hôte. C'est ainsi que de nombreuses caractéristiques anatomiques (telle la structure de la paroi de l'intestion grêle), physiologiques (tels le transit du bol alimentaire, la vitesse de renouvellement des cellules intestinales) et immunologiques (telle la maturation du système immunitaire intestinal) sont sous la dépendance de la flore intestinale. De surcroît cette flore intestinale représente une barrière extrêmement efficace contre l'invasion de l'intestin par des bactéries venant de l'environnement et qui provoqueraient des maladies graves, voire mortelles, si elles se développaient dans la lumière intestinale. L'effet de barrière est l'une des fonctions essentielles exercée par la flore intestinale : il protège l'hôte avant toute intervention de ses défenses immunitaires quelle que soit la taille de l'inoculum de bactéries potentiellement pathogènes ingéré par l'hôte.

D'autres mécanismes interviennent dans le maintien ou la dégradation de l'état de santé de l'hôte : ceux qui s'opposent à la production de substances nuisibles (irritantes, co-cancérigènes, toxiques pour les cellules intestinales ou hépatiques) par certaines bactéries résidentes, et ceux qui optimalisent la production de substances utiles (vitamines) ou la réutilisation par l'hôte de substances incomplètement digérées par ses enzymes mais que certaines bactéries résidentes savent transformer en substances utilisables par l'hôte (acides organiques).

En outre, chez certains animaux, la flore bactérienne exerce un rôle nutritionnel essentiel. C'est le cas des ruminants, qui possèdent un réservoir situé au début de l'intestin (la panse, ou rumen), ou les enzymes bactériennes suppléent à l'absence des enzymes de l'hôte.

L'équilibre entre les bactéries résidentes qui sont utiles et celles qui sont nuisibles est fragile. Il est susceptible de varier en fonction du régime alimentaire. L'ingestion de substances antibactériennes peut être responsable de véritables catastrophes écologiques, d'autant plus graves qu'on ne sait pas, à l'heure actuelle, rétablir un équilibre bactérien favorable à l'hôte.

Le jeune mammifère naît sans bactéries, mais les bactéries peuplent son tube digestif dans les 6 à 12 heures qui suivent la naissance, quelles que soient les précautions d'hygiène dont il

est entouré. Cet ensemencement initial se fait actuellement dans des conditions totalement incontrôlées chez l'Homme comme chez les animaux domestiques. Or, on constate que la fréquence des pathologies digestives est particulièrement élevée chez le nouveau-né qu'il soit humain ou animal.

Chez l'adulte l'équilibre de la flore du tube digestif peut varier considérablement en fonction de divers facteurs du milieu dont le régime alimentaire est sans doute le plus important. Les variations de l'équilibre sont à l'origine de nombreuses situations pathologiques.

La raison en est que les mécanismes qui président à l'élaboration de la flore intestinale de l'adulte nous sont encore pratiquement inconnus. On sait seulement qu'un petit nombre d'espèces bactériennes savent coloniser l'intestin du nouveau-né. Ensuite d'autres séquences d'implantation bactérienne ont lieu, jusqu'à ce que la flore bactérienne s'oppose à toute implantation des bactéries ingérées par l'hôte.

L'enjeu des recherches poursuivies au Laboratoire d'Ecologie Microbienne de l'INRA est de connaître les mécanismes de régulation qui sont responsables du fait que la flore intestinale est utile ou nuisible à l'hôte, dans l'espoir de pouvoir un jour maîtriser ces mécanismes pour que l'hôte en tire le meilleur profit.

L'INRA est maintenant doté des instruments biologiques indispensables à l'étude de l'écologie microbienne du tube digestif : **les animaux axéniques.** Ces animaux prélevés stérilement à la naissance sont élevés ensuite en l'absence complète de microbes, dans des tentes plastiques appelées « isolateurs ». Les animaux axéniques peuvent ensuite être réassociés avec des bactéries connues (animaux gnotoxéniques). La comparaison entre animaux gnototoxéniques et axéniques permet d'évaluer le rôle des bactéries associées à l'animal et sa modulation par l'environnement (autres bactéries, aliments).

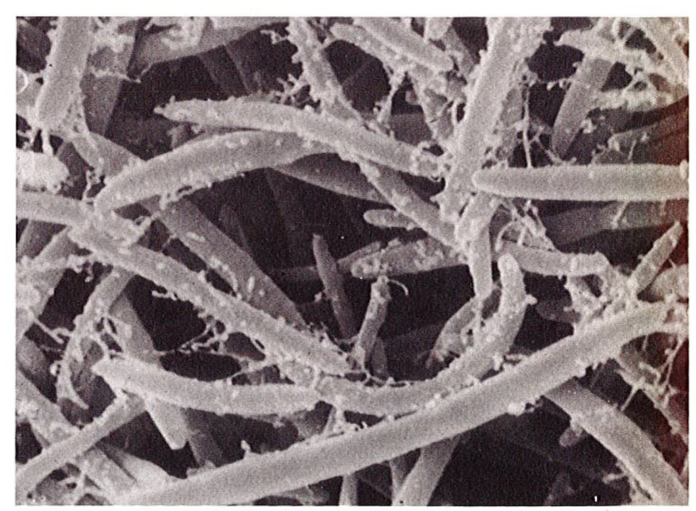
Les travaux du Laboratoire d'Ecologie Microbienne se développent actuellement dans cinq directions de recherches principales.

- La première direction concerne les **effets de barrière** exercés par certaines bactéries du tube digestif à l'égard des autres bactéries de l'environnement : lorsque ces bactéries de barrière sont présentes dans le tube digestif, elles empêchent complètement la prolifération des bactéries que l'animal ingère et qui transitent dans son tube digestif. L'application de ces recherches sera l'établissement contrôlé d'une flore de barrière pour lutter contre les bactéries entérotoxinogènes, comme certains *Clostridium* et certains *Escherichia coli* ou pour empêcher le « portage sain » de bactéries telles que les salmonelles. Elle se heurte actuellement au manque de données de base sur les mécanismes des effets de barrière et de l'implantation des bactéries dans le tube digestif.

A plus long terme, on espère contrôler l'implantation des bactéries de barrière qui ne peuvent pas coloniser l'intestin du nouveau-né. Encore faudra-t-il savoir à quel moment les introduire dans l'écosystème intestinal.

- La seconde direction de recherches concerne **la production de substances toxiques** dans l'intestin : toxines, notamment celles produites par des souches de *Clostridium* et d'*Escherichia coli,* et certains produits de métabolisme bactérien, tels que les amines ou les dérivés de substances complexes, appelées glucosinolates, que l'on trouve par exemple dans le tourteau de colza. On s'efforce de mieux connaître les mécanismes de production de ces produits nuisibles ainsi que les interactions métaboliques qui peuvent s'y opposer. Par exemple, on a montré que l'aliment, ou certaines bactéries, peuvent jouer un rôle modulateur important sur la production

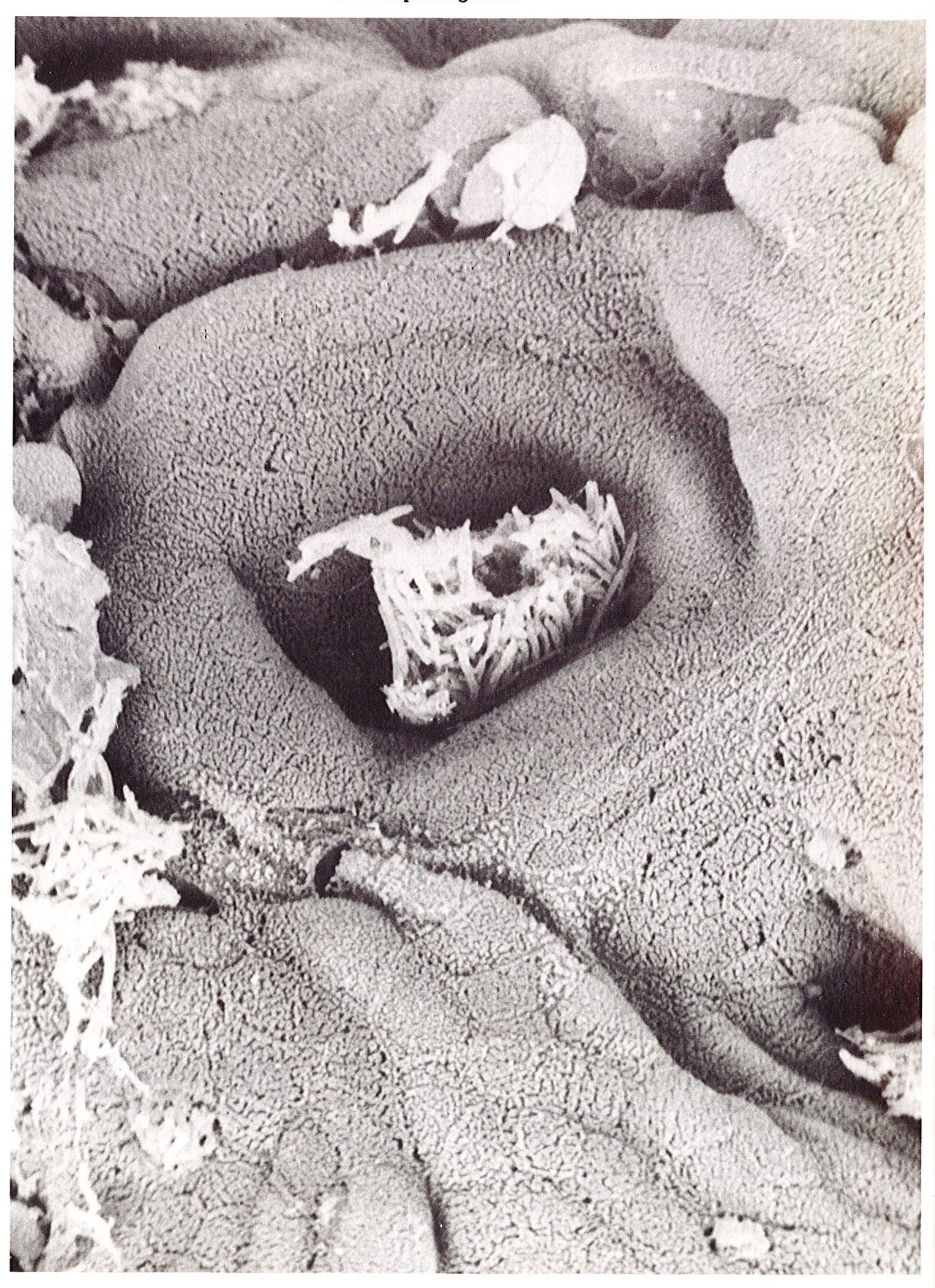
L'enjeu des recherches est de connaître les mécanismes de régulation responsables du fait que la flore intestinale est utile ou nuisible à l'hôte.



Dans le gros intestin, les bactéries anaérobies strictes (ici des *Clostridium*) forment un feutrage épais accolé à la muqueuse.
Photo INRA

L'aliment, ou certaines bactéries, peuvent jouer un rôle modulateur important sur la production des toxines.

des toxines de *Clostridium difficile,* sans pour autant modifier son niveau d'implantation dans l'intestin. On a aussi montré que le caractère pathogène de certaines souches d'*Escherichia coli,* différant selon les individus, dépendait du génome du porcelet axénique, ce qui permettrait d'envisager une sélection d'animaux ayant une meilleure résistance vis-à-vis de ces pathogènes.

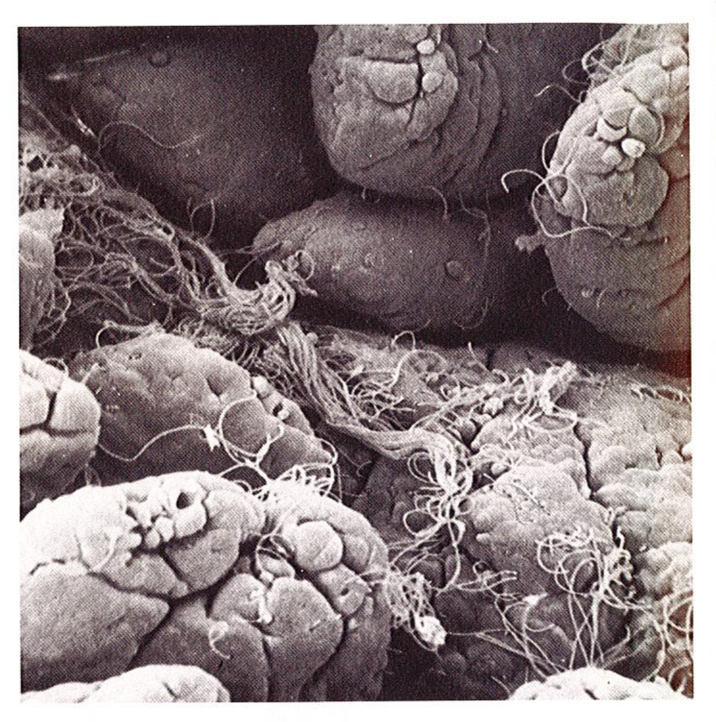


Dans l'iléon, les bactéries anaérobies strictes s'établissent dans les anfractuosités de la muqueuse où elles peuvent résister à l'effet du péristaltisme intestinal.
Photo INRA

La nature de l'alimentation conditionne la présence de certaines bactéries dans la flore du tube digestif.

● La troisième direction de recherches, directement reliée aux problèmes de nutrition, concerne les **interactions entre la flore du tube digestif et l'aliment.**

On sait maintenant que la nature de l'alimentation conditionne la présence de certaines bactéries dans la flore du tube digestif et que l'on peut ainsi favoriser la multiplication des bactéries utiles, bactéries de barrière par exemple, en agissant sur le régime alimentaire. On sait aussi que l'aliment intervient dans le métabolisme des bactéries intestinales. On s'intéresse en particulier aux nouveaux aliments ou additifs alimentaires qui ne sont ni absorbés dans l'intestin grêle ni attaqués par les enzymes de l'hôte. Par exemple certains glucides indigestibles, comme le lactose, les pectines, certains sucres nouveaux utilisés à la place du saccharose. Les fractions indigestibles ou incomplètement digérées de l'aliment, constituent autant de substrats que certaines bactéries vont transformer. Il s'en suit de nombreuses répercussions sur le fonctionnement de la flore, tels que les effets de barrière, la production de toxines ou de produits toxiques, la production d'acides organiques, et donc sur l'état de santé et/ou le gain de poids de l'hôte.



Bactéries fixées sur la muqueuse de l'intestion grêle.
Photo INRA

Le Laboratoire d'Ecologie Microbienne s'intéresse aussi au rôle de ce qu'on appelle des « probiotiques », ou encore des « biorégulateurs ». Ce sont des préparations empiriques, contenant des bactéries vivantes qui sont ajoutées à l'aliment des animaux, ou font partie de l'alimentation humaine (yogourt). Leur rôle est d'améliorer la croissance pondérale des animaux et/ou leur état de santé et celui de l'Homme. Le Laboratoire d'Ecologie Microbienne tentera d'élucider les mécanismes d'action de celles des préparations dont le rôle bénéfique pour l'hôte sera dûment établi. La connaissance des mécanismes permettra en effet de choisir les meilleures préparations bactériennes à utiliser en alimentation humaine et animale, éventuellement d'en créer d'autres par les techniques du génie génétique.

Les bactéries intestinales jouent un rôle dans le fonctionnement du système immunitaire de l'hôte.

● La quatrième direction de recherches a trait au **rôle des bactéries intestinales sur le fonctionnement du système immunitaire de l'hôte :** production d'anticorps et d'immunomodulateurs. On sait, en effet, qu'un hôte axénique possède un système immunitaire immature malgré les antigènes présents dans ses aliments. On sait aussi que les bactéries intestinales n'ont pas toutes le même pouvoir immunostimulant, et il serait utile de connaître celles qui sont les plus efficaces.

● La cinquième direction de recherches concerne les **mécanismes qui contrôlent les séquences d'implantation des bactéries intestinales.** Quelle est la part de l'aliment et celle des substances endogènes de l'hôte, quelle est la part des substances inhibitrices et celle des facteurs de croissance bactériens, quelle est la part des interactions métaboliques et celle des effets de barrière dans les mécanismes qui interviennent dans les séquences d'implantation des bactéries intestinales ?

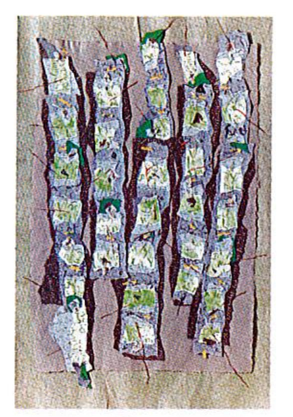
Quels mécanismes contrôlent les séquences d'implantation des bactéries intestinales chez le nouveau-né humain ?

Des applications de ces recherches sont à attendre dans le domaine des aliments du nouveau-né (laits dits « maternisés ») et ceux du nourrisson, dont la composition n'a jamais été, jusqu'ici, étudiée dans l'optique d'une implantation optimale de la flore bactérienne.

A plus ou moins long terme, cet ensemble de travaux devrait aboutir à une meilleure connaissance des multiples interactions entre l'hôte, son régime alimentaire et sa flore intestinale, et arriver à une meilleure gestion de ce potentiel enzymatique énorme que représente la flore bactérienne du tube digestif.

Robert Ducluzeau
Ecologie microbienne

Signalisation de la Virologie et immunologie moléculaires par Michel Henri Viot.



Vaccination antivirale : nouvelles perspectives

Un organisme en proie à une infection virale développe des réactions de défense qui lui permettent d'être efficacement prémuni lors d'une infection ultérieure. Le but de la vaccination est bien sûr d'installer cette immunité spécifique en l'absence des désordres pathologiques associés à l'infection naturelle. Les vaccins actuels, vivants ou inactivés, ont rendu d'immenses services mais ils sont perfectibles. Les nouvelles technologies permettent d'envisager de nouveaux types de préparations vaccinales.

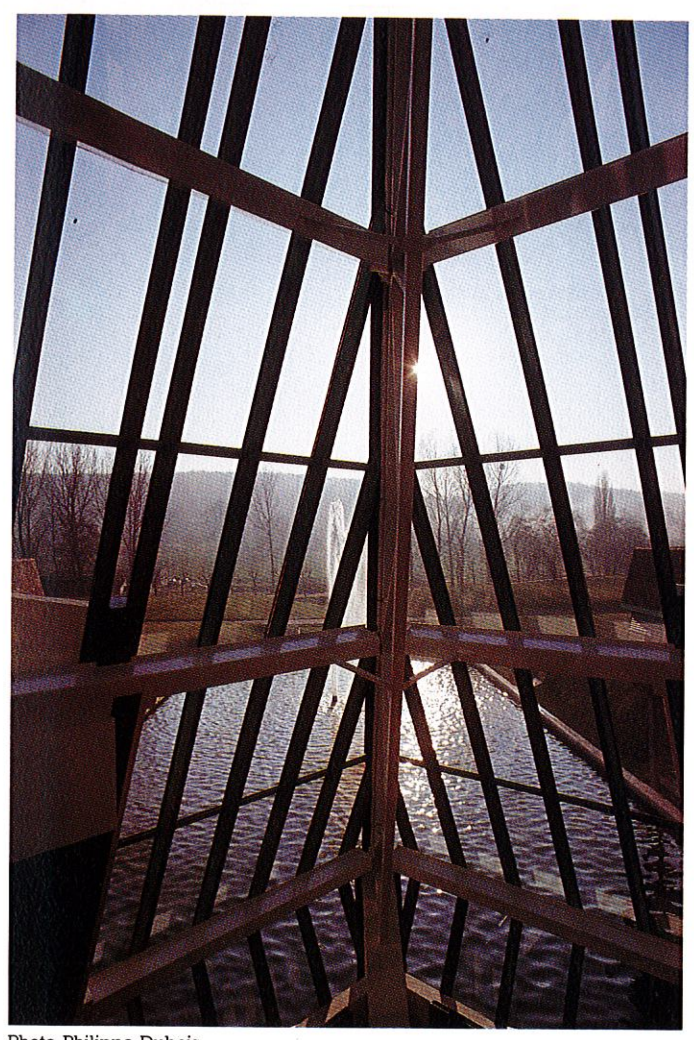


Photo Philippe Dubois

Grandeur et servitudes des vaccins conventionnels

Quoiqu'ayant bénéficié d'améliorations considérables au fil du temps, les méthodes de vaccination antivirale n'ont, pour l'essentiel, guère varié depuis les travaux de Jenner et de Pasteur. Les préparations actuelles se présentent sous deux formes : d'une part les vaccins à souches atténuées, dits "vivants," qui confèrent une immunité proche de celle qui résulte de l'infection, d'autre part les vaccins inertes, dans lesquels le virus est inactivé par un processus physique ou chimique, d'où une grande sûreté d'utilisation.

De tels vaccins ont remporté d'incontestables victoires : en médecine vétérinaire par exemple, ils ont permis de juguler des viroses dévastatrices comme la peste porcine classique ou la fièvre aphteuse chez les bovins. Cela étant, ils souffrent de certaines imperfections tant au plan de la fabrication que de l'utilisation. Ainsi, les souches atténuées ne sont obtenues qu'au prix d'une sélection longue et semi-empirique. Certaines d'entre elles présentent un pouvoir pathogène résiduel non négligeable, et le risque de retour vers la virulence n'est jamais écarté. Quant aux vaccins inactivés, leur efficacité requiert l'emploi de doses très importantes ou réitérées ; de plus, le risque d'inactivation incomplète n'est pas nul. Enfin l'on conçoit que la production en masse de certains pathogènes exige un confinement hautement contraignant pour le fabricant.

Le souci d'accroître l'innocuité ou l'efficacité des préparations actuelles, mais aussi la nécessité de créer de nouveaux vaccins contre des viroses pour lesquelles n'existe encore aucune prophylaxie médicale efficace, ont donc incité les chercheurs à développer des procédés radicalement nouveaux. L'énorme potentiel d'application des biotechnologies, notamment le génie génétique, a rendu possible l'évolution à laquelle on assiste.

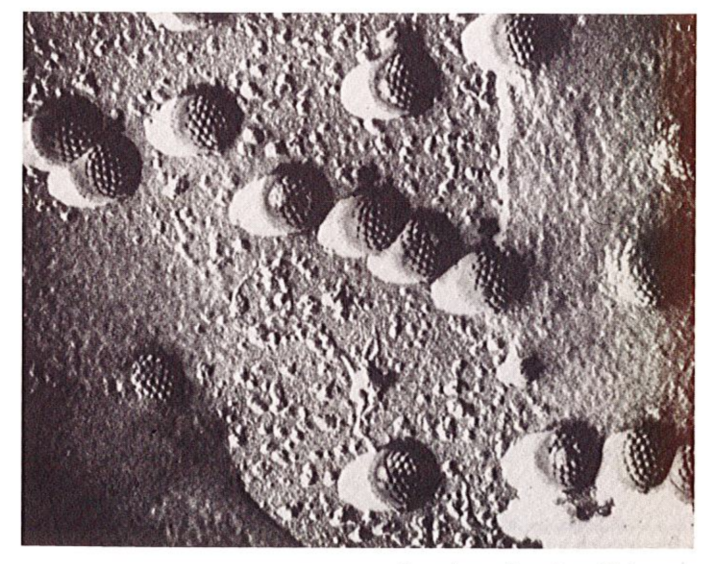
Des virus et des antigènes

Les virus sont des "objets biologiques" dont le génome est constitué soit d'ADN soit d'ARN ; c'est-à-dire que leur information génétique est portée par une ou plusieurs molécules d'ADN ou d'ARN. Ce génome est empaqueté dans une coque protéique ou dans une enveloppe lipoprotéique, dont la structure est propre à chaque famille. Les protéines situées à la superficie des virus déterminent leur tropisme, autrement dit la capacité à trouver leur cible : les cellules de l'hôte où s'exprime leur pouvoir pathogène. Les cellules ainsi infectées se mettent à fabriquer des protéines codées par le génome de

l'envahisseur. Ces dernières possèdent virtuellement une activité "antigénique," c'est-à-dire la capacité d'induire une réponse immune spécifique. Cependant seules quelques-unes, voire même l'une d'entre elles, sont responsables de la réponse protectrice, dont le mécanisme précis est adapté à chaque type de virus et à son tropisme : synthèse d'anticorps neutralisant le pouvoir infectieux viral, ou activation de cellules lymphocytaires aptes à éliminer les cellules infectées. Ces protéines, dites **antigènes protecteurs,** constituent le "principe actif" qui confère leur efficacité aux vaccins inertes comme aux vaccins vivants. Ces données laissent entrevoir la possibilité de développer de nouveaux types de vaccins en faisant appel soit au virus entier, soit à une fraction sous-virale, voire même à un fragment d'antigène : d'où la diversité des stratégies envisagées.

Antigènes synthétiques

Dans cet assemblage d'antigènes qu'est un virus, chaque antigène est lui-même constitué d'une mosaïque de **déterminants antigéniques,** ou épitopes, dont certains sont préférentiellement reconnus par le système immunitaire. C'est là ce qui ressort de l'analyse fine de la structure antigénique de nombreuses protéines virales à l'aide d'**anticorps "monoclonaux"** (issus de la technologie des hybridomes), dont la spécificité est restreinte à un épitope unique. Or s'il est inenvisageable de synthétiser par voie chimique une chaîne protéique complète, il est en revanche possible d'en assembler un fragment, de la taille d'un épitope par exemple. Ces **peptides synthétiques** mimant un épitope représentent conceptuellement un vaccin idéal, car chimiquement défini. Cela explique qu'en dépit de certains obstacles, ils fassent l'objet de nombreux travaux. Il a été prouvé que l'injection d'un peptide synthétique correspondant à un épitope immunodominant du virus de la fièvre aphteuse induisait chez les bovins la synthèse d'anticorps neutralisants ; mais la protection engendrée n'était que partielle, et il est clair que la voie chimique ne pourra se substituer à la voie biosynthétique qu'au prix d'autres innovations.



Rotavirus - photo Raoul Scherrer.

Antigènes recombinants et vecteurs de présentation

Le clonage moléculaire d'un gène, autrement dit son isolement et son obtention sous forme de copies multiples, est devenue une opération courante grâce au génie génétique. Ce terme désigne, rappelons-le, un ensemble de techniques d'intervention sur l'ADN, et notamment la **recombinaison,** c'est-à-dire le transfert d'un fragment d'ADN d'un génome à un autre. Moyennant une construction appropriée, il est même possible d'obtenir qu'un gène cloné s'exprime - c'est-à-dire que soit synthétisée la protéine pour laquelle il code - dans un organisme étranger. Une telle reprogrammation génétique de la cellule de bactérie ou de mammifère est réalisable du fait de l'universalité du code génétique.

Cette technologie est naturellement applicable aux gènes qui codent pour des antigènes viraux, y compris lorsque le gène provient d'un virus à ARN (à condition de disposer d'une copie ADN de ce gène). Le but visé est ici l'obtention d'une sous-unité virale en l'absence de tout autre constituant, non essentiel ou dangereux, du virus considéré. Certes l'idée

d'une **vaccination par une sous-unité virale** est antérieure à l'avènement du génie génétique, mais cette technologie en facilite considérablement la réalisation, en particulier par une production en masse bien plus aisée qu'avec les procédés classiques (en fermenteur de bactéries ou de levures par exemple). Un nombre croissant de ces **"antigènes viraux recombinants"** sont ainsi obtenus. Pour autant, leur efficacité vaccinale reste à établir. L'un des exemples le plus connu est l'hyperexpression dans la bactérie Escherichia coli de la protéine VP1 du virus de la fièvre aphteuse. Des animaux inoculés avec la protéine VP1 recombinante se montrent capables de résister à l'épreuve virulente. Cependant les doses requises sont encore trop importantes pour que l'on puisse songer à une utilisation prophylactique. Cet insuccès partiel confirme que le mode de présentation de l'antigène, en l'occurence une protéine soluble au lieu d'un virus, est un paramètre important.

C'est en partie pour tenter de pallier cet écueil que s'est développée une approche différente, dont le but est de présenter plus avantageusement les déterminants antigéniques au système immunitaire, en les exposant à la surface d'une bactérie ou d'une particule pseudo-virale : **un vecteur de présentation.** La technique dite de fusion de gènes permet en effet de créer une protéine hybride, associant un fragment d'antigène avec une protéine de la paroi bactérienne par exemple.

Vecteurs viraux

Intimement liée dans son principe même à la technologie de l'ADN recombinant, cette approche consiste à introduire un gène codant pour une protéine immunogène dans le génome d'un agent infectieux mais non pathogène, appelé **vecteur ;** celui-ci, en se multipliant dans l'organisme, va produire l'antigène à la place du virus dont il provient. L'on tente ainsi d'allier les avantages du vaccin "sous-unité" à ceux du vaccin "vivant," qui procure une immunité plus solide et plus durable. Les vecteurs viraux, outre évidemment l'absence de pouvoir pathogène chez l'animal, doivent posséder un génome à ADN, ce qui facilite les opérations de recombinaison, et être capables d'héberger un fragment d'ADN étranger sans perdre leur faculté de réplication.

Leur mise au point suscite actuellement de nombreux travaux et les premiers résultats sont incontestablement prometteurs. Le vecteur le plus sollicité a été obtenu à partir d'un poxvirus, le virus de la vaccine, celui-là même auquel on doit l'éradication de la variole humaine. L'une des réussites en ce domaine est l'élaboration par la société Transgène d'un virus vaccine recombinant qui porte le gène codant pour la glycoprotéine externe du virus de la rage. L'efficacité d'une telle vaccination, y compris par voie orale, chez différentes espèces animales, dont le renard, ouvre la perspective d'une vaccination antirabique de la faune sauvage.

Souches recombinantes atténuées

Utiliser le virus lui-même comme vecteur de ses propres antigènes est possible à une condition : altérer de façon stable son pouvoir pathogène sans trop affecter ses facultés de réplication chez l'animal, ce qui reste une opération critique avec les méthodes conventionnelles. Or le génie génétique offre l'opportunité d'**atténuer rationnellement** une souche virale. Pour ce faire, il est d'abord nécessaire d'identifier dans le

génome un ou plusieurs gènes impliqués dans l'expression de la virulence. Les étapes suivantes consistent à cloner le gène de virulence, à le tronquer, puis à réinsérer le gène ainsi inactivé à la place du gène sauvage selon un processus de recombinaison homologue. Malheureusement, seuls les virus à ADN double chaîne se prêtent bien à ce type de manipulation.

C'est l'approche qui a été choisie dans le cas d'un herpèsvirus actuellement pathogène majeur dans l'espèce porcine, le virus de la pseudorage ou maladie d'Aujeszky. Des souches recombinantes TK^- (privées du gène de la thymidine kinase) montrent un pouvoir vaccinant comparable à celui des souches empiriquement atténuées. Des vaccins antipseudorage construits sur ce modèle devraient être commercialisés dans un avenir proche et devenir ainsi les premiers vaccins recombinants vivants utilisés sur le terrain.

Application aux virus responsables d'entérites néonatales

Les coronavirus et les rotavirus, responsables de diarrhées du jeune chez les animaux d'élevage, mais aussi chez l'homme, constituent l'un des pôles de recherche au sein du laboratoire. Ces virus, dont l'existence et l'impact pathologique ont été reconnus il n'y a guère plus d'une décennie, ont pour cible élective les entérocytes couvrant les villosités de l'intestin grêle, et provoquent une entérite très sévère, bien souvent fatale au nouveau-né. Il est bien établi que la protection repose sur une immunité localisée au tractus digestif. Par ailleurs l'absorption d'anticorps présents dans le lait des mères immunes protège efficacement les jeunes pendant la période critique. L'expérience a montré qu'il était très difficile d'obtenir une immunité intestinale ou lactée avec des souches atténuées selon les procédés traditionnels. De fait, les préparations vaccinales disponibles restent d'une efficacité limitée.

S'il est pour l'heure impossible d'affirmer que les nouvelles technologies permettront d'apporter des solutions de lutte contre ces virus entéropathogènes, il est du moins clair que leur mise en œuvre permet de mieux cerner les bases moléculaires de la virulence et de l'immunité dans ce type d'infection. Les travaux menés sur le rotavirus bovin visent actuellement à rechercher, parmi les protéines de la coque virale, les meilleurs candidats comme antigène protecteur. A cette fin, les gènes correspondants ont été intégrés dans le vecteur poxvirus (vaccine), et les recombinants ainsi obtenus sont testés dans le modèle souris. Dans le cas du coronavirus porcin responsable de la gastroentérite transmissible, de structure plus simple, les études se focalisent sur une glycoprotéine de masse imposante présente à la surface du virus. Les principaux sites antigéniques, ainsi qu'un déterminant de virulence ont pu être localisés sur la chaîne protéique. Les essais réalisés aux USA sur des porcs inoculés avec un virus vaccine recombinant porteur du gène codant pour cette glycoprotéine se sont soldés par un échec. Ceci illustre le fait qu'il n'existe pas à l'heure actuelle de vecteur capable d'instaurer une immunité dans la sphère digestive. A cet égard, il n'est pas interdit de penser que les virus étudiés au laboratoire puissent à leur tour servir de vecteurs, précisément en raison de leur tropisme intestinal. Mais il s'agit là de projets à plus long terme, car les rotavirus comme les coronavirus ont un génome à ARN, ce qui rend les opérations extrêmement complexes.



Porcelets à la naissance (Inra Rennes St-Gilles) : le corona virus responsable de la gastroentérite des porcelets nouveaux-nés cause des pertes importantes dans les élevages naisseurs.
Photo J. Chevalier



Photo Paul Popescu

Conclusions

Telles sont, brièvement esquissées, les nouvelles perspectives en matière de fabrication de vaccins. A l'instar des vaccins traditionnels, les vaccins de seconde génération pourront être soit du type "inerte" (peptides synthétiques, antigènes recombinants), soit du type "vivant" (vecteurs réplicatifs, souche recombinante atténuée). La plupart des approches décrites demeurent au stade de la percée technologique, mais certaines sont pratiquement parvenues à celui de la réalisation. S'il est vrai qu'ils aient encore à faire leurs preuves au plan de l'efficacité et du coût de revient, de tels vaccins possèdent néanmoins des atouts majeurs. L'absence de particules pathogènes est un gage de sécurité pour le producteur comme pour l'utilisateur. Le fait que l'immunisation repose soit sur un antigène unique, soit sur une souche se distinguant du virus sauvage par l'absence d'une protéine, permet en outre de différencier animaux infectés et vaccinés (par le biais d'un test immuno-enzymatique simple sur un prélèvement sanguin) : il devient alors possible de vacciner dans un élevage tout en poursuivant un processus d'éradication, deux opérations qui jusqu'à présent étaient inconciliables.

Hubert Laude
Virologie et immunologie moléculaires

Pour en savoir plus

- Dossiers de fiches thématiques 1988 : quelques thèmes de recherche sur les Biotechnologies Animales, Végétales, Agro-Alimentaires. DIC.
- Dossier : « Biotechnologies au service de la production végétale » (10 fascicules), 110 F. Cassette vidéo et dossier : 400 F — La cassette ne sera pas vendue isolément. INRA-DIC., Service des Publications, Route de St-Cyr, 78000 VERSAILLES.
- François Grosclaude : « Polymorphisme génétique de caséines de chèvre et de vache : relations avec la qualité des laits et détection précoce ». INRA, Rapport d'activité 1987, 1988, pp. 117-119.
- François Grosclaude : « Le Polymorphisme génétique des principales lactoprotéines bovines ». Productions animales, vol. 1, nº 1, Février 1988, pp. 5-7.
- Louis-Marie Houdebine : « Les animaux transgéniques ». INRA, Rapport d'activité 1987, 1988, pp. 58-60.
- « L'avenir des biotechnologies ». La Recherche, nº spécial 188, Mai 1987, vol. 18, pp. 565-736 (plusieurs chercheurs INRA ont contribué à ce numéro).
- « Biotechnologies et production agricole. Un aperçu des grandes tendances dans le monde ». Rapport au Conseil Scientifique de l'Institut National de la Recherche Agronomique, 13 juin 1988, par André Berkaloff, professeur à l'Université Paris-sud, chargé de mission pour les Biotechnologies auprès de la Direction Générale, 18 pages.
- P. B. Joly, C. Ducos : « Les Biotechnologies ». Ed. Repère-La Découverte, 1988, 80 pages.
- Marie-Françoise Chevallier-Le Guyader. « Les Biotechnologies ». Hachette « Echos », la nouvelle encyclopédie Fondation Diderot, 1987, 80 pages.

Audiovisuels

- Transfert de gènes, 1987 ; réalisation : Gérard Paillard ; production : INRA-DIC ; durée : 4 mn 30 ; 16 mm et vidéo 3/4. Public : chercheurs, enseignants.
- Mâle ou femelle (sexage des embryons), 1987 ; réalisation : Gérard Paillard ; production : INRA-DIC ; durée 5 mn ; 16 mm et vidéo 3/4 ; Grand public.
- Les virus et les vaccins, 1987 ; réalisation : Gérard Paillard ; production : INRA-DIV ; durée 15 mn, 16 mm et vidéo 3/4. Public : chercheurs, enseignants.
- Biotechnologies et amélioration des plantes, 1986 ; réalisation : Jeanine Goacolou — Etienne Perdrizet ; production : INRA-DIC ; durée 12 et 15 mn ; diaporama, vidéo 3/4 et VHS. Public : enseignants, étudiants, scientifiques.
- Multiplication végétative in vitro, 1983 ; réalisation : Gérard Paillard, Conseiller scientifique : Etienne Perdrizet ; production : INRA ; durée 14 mn ; 16 mm, vidéo et VHS. Grand public.
- Colza d'aujourd'hui et de demain, 1985 ; réalisation : Technimédia ; production : INRA-DIV ; durée 14 mn ; vidéo 3/4. Public : professionnels, enseignants, étudiants, scientifiques.

Techniques et moyens de pointe

Dans le domaine de la biologie moléculaire et cellulaire, la compétition nationale et internationale est vive. Rassembler des équipes de thématiques différentes, parfois complémentaires mais utilisant des technologies proches, sinon identiques, est l'une des conditions du succès. Une autre de ces conditions est de fournir aux chercheurs des moyens techniques modernes et performants, qui, en raison de leur coût, n'auraient pu être attribués à des groupes isolés.

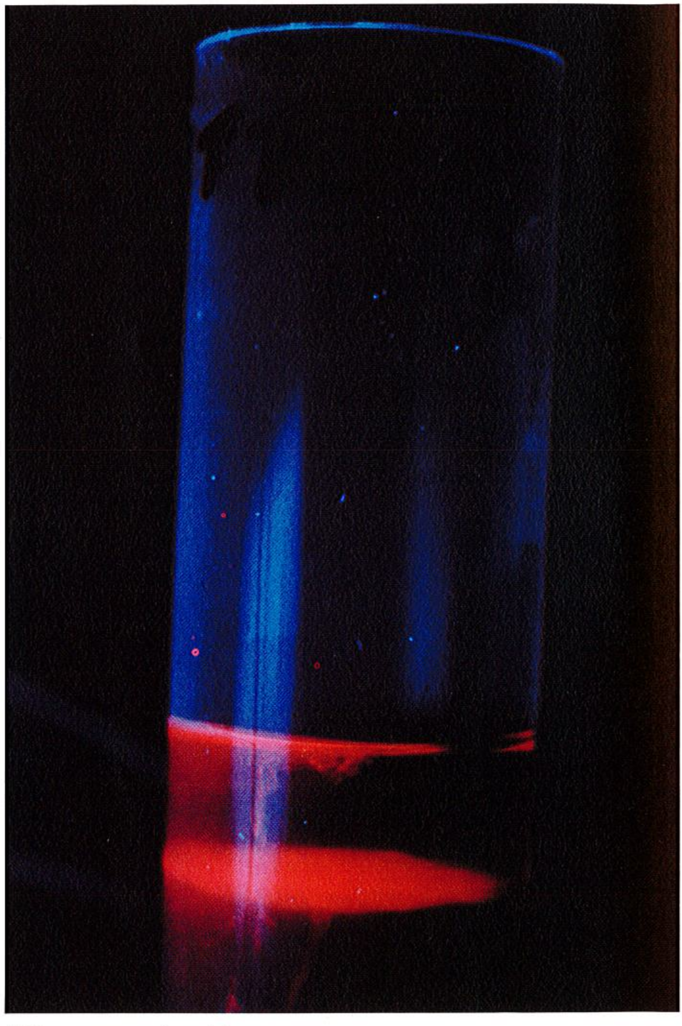
C'est pourquoi dès la mise en place du projet de Bâtiment de Biotechnologie Animale, les responsables scientifiques des unités concernées, en accord avec la Direction Générale, ont convenu de mettre en commun certains gros appareils. Après concertation, la liste suivante était retenue, en octobre 1984 :

- synthétiseur d'ADN
- synthétiseur de peptides
- microscope électronique
- séquenceur d'ADN
- trieur de cellules

Synthétiseur d'ADN

Le terme de synthétiseur d'ADN est en soit un peu exagéré ; on devrait plutôt parler de synthétiseur de fractions d'ADN (oligonucléotides). En effet à l'heure actuelle, on peut préparer avec un rendement correct des chaînes constituées d'environ 90 à 100 nucléotides. Cette acquisition fut réalisée très tôt : en effet les techniques de génie génétique nécessitent dans de nombreux cas l'utilisation d'amorces oligonuoléotidiques indispensables au « démarrage » des ADN polymérases. Après une étude sérieuse des différents appareils disponibles sur le marché il fut décidé d'acheter un DNA synthesizer 8600 produit par Biosearch* (1 MF). Livré dès le début de 1986 sa mise en service ne pose aucun problème et mis à part quelques petits ennuis de fuites qui semblent à l'heure actuelle maîtrisés l'appareil donne satisfaction. S'il n'a pas encore servi à préparer des gènes synthétiques, il a déjà permis l'obtention de plus de 500 matrices (primers) et sondes. Ces molécules ont été demandées soit par des chercheurs dépendants d'équipes mentionnées plus haut, soit par des laboratoires INRA de Jouy et de Versailles mais aussi par des équipes extérieures à notre Institut.

* Après la décision d'intégrer une unité de génétique microbienne en 1985.



ADN, aux rayons ultra-violets.
Photo David Tepfer.

Synthétiseur de peptides

Comme le nom l'indique cet appareil permet la synthèse de chaînes d'acides aminés pouvant atteindre dans les conditions les plus favorables une longueur d'une cinquantaine d'éléments. Plusieurs machines étaient disponibles au moment de notre choix. Toutes proposaient un automatisme de fonctionnement satisfaisant permettant à la limite, une utilisation par des personnels peu expérimentés.

Nous avons finalement préféré* le Peptide Synthétizer 430 A de chez Applied Biosystem (1,1 MF) très largement distribué, permettant dans une certaine mesure trois synthèses en parallèle. Cet appareil en outre, laisse à l'utilisateur le choix entre les deux grandes voies de synthèses peptidiques (celle des t-BOC plus ancienne et très utilisée aux USA, et celle des FMOC bien développée en Europe) ; il est en outre adaptable

Microscopie électronique : noyau d'un spermatozoïde de bélier, porteur d'information génétique.
Photo J. E. Fléchon



à de nouvelles chimies qui pourraient se développer dans les années à venir dans ce domaine en évolution.

On conçoit aisément l'importance d'un tel outil dans de nombreux domaines de recherche pure ou d'application ; Deux exemples peuvent être évoqués pour fixer les idées. Dans le domaine de la physiologie, l'utilisation d'oligopeptides identiques ou analogues à la séquence en acides aminés reconnue par les récepteurs cellulaires, permettra de mieux comprendre le mode d'action des hormones, en offrant une approche plus analytique des interactions hormones-récepteur ; dans le domaine de la pathologie, la synthèse de peptides identiques aux séquences protéiques virales, bactériennes ou parasitaires induisant chez l'animal la production d'anticorps protecteurs ouvre la voie à la mise au point de nouveaux types de vaccins plus sûrs que ceux utilisés à l'heure actuelle.

L'appareil vient d'être livré. Les premiers essais sont en cours.

Microscopie électronique

Il est inutile d'insister sur la nécessité de disposer d'un service de microscopie électronique : les domaines d'application en génétique, physiologie, virologie... sont innombra-

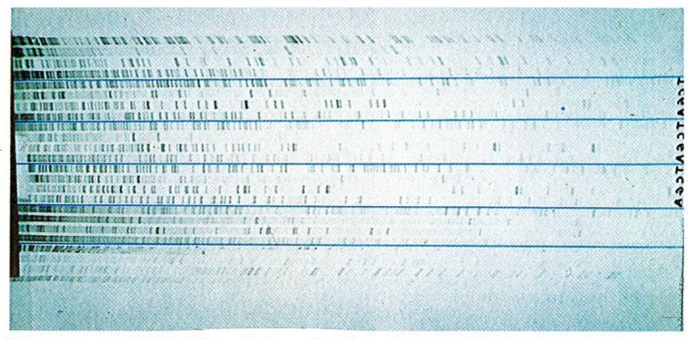
bles ; c'est pourquoi il a été décidé d'acquérir un microscope à transmission, le Philips CM12, l'un des derniers nés en la matière (1,2 MF).

Il a été également décidé pour 1989 d'acheter un microscope à fluorescence qui possède un système d'amplification vidéo ; celui-ci permet d'observer des cellules vivantes à l'aide d'un colorant fluorescent, par exemple des divisions cellulaires.

* Biosearch équipé d'un système expert, fournissant des conseils sur les différentes étapes de la synthèse, en fonction de la séquence en acides aminés désirés.

Séquenceur d'ADN

Le nombre considérable et toujours croissant de gènes dont la connaissance de la séquence est indispensable à l'avancement de nos travaux, nous conduit de manière de plus en plus pressante à rechercher des appareils permettant d'automatiser le plus possible la détermination des séquences nucléotidiques. Des progrès importants sont faits dans ce domaine et plusieurs firmes sont en concurrence sur ce marché. Cette acquisition prévue en 1989 soulagera nombre d'entre nous d'un travail long et souvent répétitif ; il reste cependant encore à tester la fiabilité des appareils proposés qui ne prétendent pas, en outre, effectuer de manière totalement automatisée l'ensemble complexe des manipulations conduisant du gène ou d'un de ses fragments à l'établissement de sa séquence.



Séquençage d'ADN, déterminé après séparation par électrophorèse.

Trieur de cellules

La cytométrie en flux, technique utilisée par le trieur de cellules, permet l'analyse de cellules ou de particules en suspension, en mesurant les signaux optiques qu'elles émettent lorsqu'elles sont excitées par une source lumineuse. Ces signaux optiques pouvant être reliés aux propriétés physiques et biologiques de la cellule, permettent de déceler les différentes populations cellulaires présentes. Celles-ci pouvant être ensuite triées pour des études fonctionnelles ou moléculaires ultérieures.

L'importance de la somme mise en jeu (2,5 MF) conduit à une réflexion poussée sur la pertinence et le nombre des programmes de recherches devant utiliser un tel outil. L'INRA dispose déjà d'un tel appareil à Nouzilly ; il est possible d'utiliser également des trieurs dans d'autres instituts de la région parisienne ; alors le problème de la rentabilité de l'acquisition de ce type de matériel, pour le centre de Jouy, reste encore entier.

En conclusion

Pour conclure très brièvement on constatera qu'effectivement un regroupement de chercheurs utilisant des technologies semblables a permis de mettre à leur disposition un ensemble de matériel coûteux et sophistiqué auquel ils n'auraient pas pu avoir accès en restant isolés. Cet ensemble est la propriété d'une collectivité et doit être largement ouvert vers des utilisateurs potentiels ne « résidant » pas dans le bâtiment ni même dans le Centre de Jouy. En outre il ne faut pas non plus penser qu'une telle structure doive rester figée ; d'autres acquisitions seront à envisager au fur et à mesure de l'évolution des techniques. Enfin il reste à espérer que les résultats obtenus seront à la hauteur des moyens mis à disposition.

Jacques Laporte
Virologie et immunologie moléculaires

Réalité du bâtiment des biotechnologies

La réalisation du dispositif de recherches en biotechnologies de Jouy a été une opération lourde, complexe et de longue haleine. La décision de construire ce bâtiment a été prise en 1983 ; les premiers financements destinés à sa construction ont été débloqués en 1984, les premiers recrutements effectués en 1985 ; l'achat de l'équipement lourd a commencé en 1986 en même temps que les travaux de construction ; le bâtiment a été achevé en 1988 et les derniers investissements en matériel, nécessaires pour le bon démarrage des laboratoires, ont été réalisés grâce au complément de crédits mis en place après l'adoption du décret d'avance de juin 1988. Ainsi la construction et l'équipement de ces 5.800 m² de laboratoires qui regrouperont près de 250 personnes ont été réalisés sur cinq années budgétaires. Le coût total de l'opération, hors salaires, est estimé à 98 millions de francs.

Environ 120 personnes travaillaient déjà à Jouy. Elles ont été rejointes par de nouveaux venus : 35 chercheurs de haut niveau recrutés en France et à l'étranger et des équipes INRA venues de Jouy, d'Orsay, de Thiverval-Grignon, de Paris, de Rennes...

Elles sont réunies dans des locaux fonctionnels où les conditions de sécurité et de protection ont été optimisées et elles disposent d'un équipement lourd très performant.

Il faut également noter que le bâtiment n'est pas simplement fonctionnel, il est également beau et il s'insère très harmonieusement dans le cadre magnifique de la vallée de la Bièvre. Prouvant que science et environnement sont capables de faire bon ménage.

Le bâtiment des Biotechnologies a été inauguré le 7 octobre 1988 par le Président de la République, François Mitterrand, Hubert Curien étant ministre de la Recherche et de la Technologie, Henri Nallet étant ministre de l'Agriculture et de la Forêt, en présence de nombreuses personnalités.



Inauguration du Bâtiment des Biotechnologies, le 7 octobre 1988, par le Président de la République, François Mitterrand ; de gauche à droite : Y. Demarne, P. Douzou, J. Poly, F. Mitterrand. Photo Christian Slagmulder

Recherche et Architecture

L'INRA lance en 1984, un concours d'Architecture pour la conception et la réalisation de son bâtiment des Biotechnologies sur le site classé de Jouy-en-Josas.

Yves de Buhren et Pierre Audouin, architectes à Paris gagnent ce concours. Michel Henri-Viot, peinture-graveur, est chargé de la couleur et de la signalétique.

Le programme

Il s'agissait de :

- réunir plusieurs unités de recherche en biotechnologies, jusque là dispersées, autour d'un pôle technique moderne.
- concevoir un lien qui permette aux chercheurs de dépasser leur individualisme naturel en favorisant leur rencontre régulière autour de leurs thèmes de recherche ou autour de simples lieux de vie agréables.
- donner à ce bâtiment une dimension internationale en l'ouvrant largement à des échanges fréquents avec des équipes étrangères.
- faire se rencontrer art contemporain et travail scientifique.

Le parti d'architecture

Comme il est le plus souvent naturel, le parti d'architecture a été dicté par les contraintes physiques du site, les contraintes fonctionnelles du programme et les réflexions de l'équipe de conception.

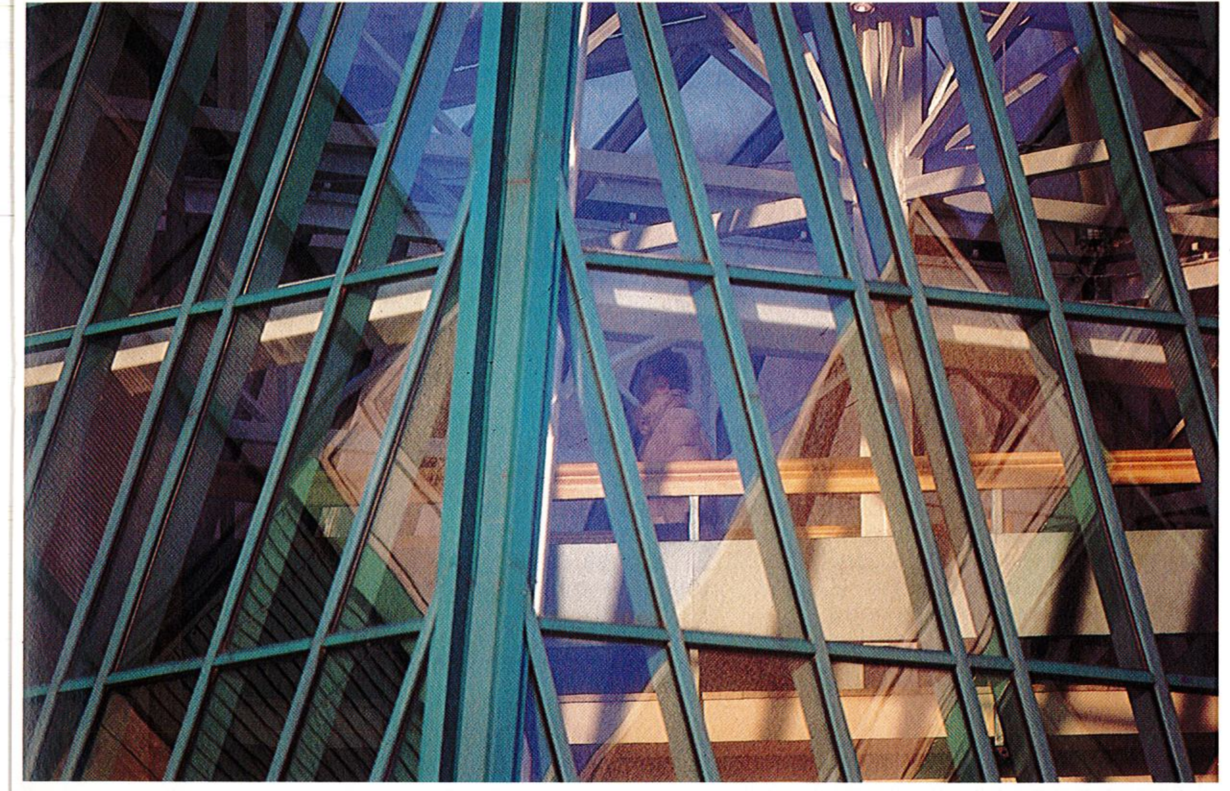
Contraintes physiques :

- Le terrain en pente vers la Bièvre recueille toutes les eaux de ruissellement du coteau boisé. Tout bâtiment implanté sur ce site devient un véritable barrage. C'est ainsi que « les biotechnologies » sont une grande retenue d'eau drainée vers un bassin de rétention qui deviendra source de composition architecturale majeure pour les architectes.

- Le domaine de Jouy-en-Josas est dans le site classé de la Vallée de la Bièvre. Par respect et dans un souci d'intégration à cet environnement, un certain nombre de dispositions ont été prises :

— Refus de toute agression verticale et parti pris d'un bâtiment horizontal parallèle à l'axe de la vallée.

Photo Philippe Dubois



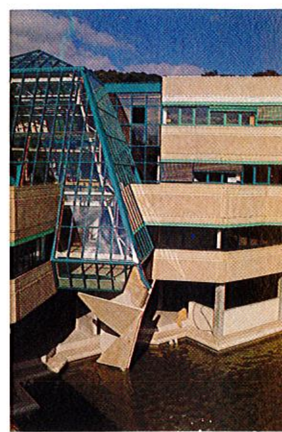


Photo Paul Popescu

— Conception étagée en terrasses s'adaptant rigoureusement à la forme de pente du terrain.

— Recherche du grain et de la teinte des bétons préfabriqués en harmonie avec la meulière et les enduits traditionnels de la vallée.

— Recherche de la teinte des aluminiums dans la palette des essences végétales du coteau environnant.

Contraintes fonctionnelles :

L'idée de regroupement des unités de recherche autour d'un pôle technique commun a conduit à la conception d'un noyau central de grande qualité, une verrière favorisant la transparence vers la rivière, une certaine réponse à l'eau du bassin, et la pénétration de la nature dans le grand hall. Ainsi, deux fortes ailes en béton abritent les unités de recherches et se raccrochent, à la manière de celles d'un gigantesque papillon, sur un corps brillant comprenant les organes fondamentaux et indispensables à la vie de l'ensemble. Selon une vision chère à Lao Tseu, un gigantesque soufflet attise dans un creuset de cristal la naissance ou la manipulation de la vie.

L'architecture

La rigueur de la géométrie traditionnelle, la force d'un grand axe ou d'un tracé régulateur, la puissance des fonctions de symétrie, d'homothétie ou de similitude, la beauté du carré et de ses diagonales sont autant de préoccupations des architectes, directement lisibles depuis le plan-masse du bâtiment jusqu'aux dessins des panneaux de béton préfabriqués.

Michel Henri Viot a défini avec exactitude la matière des éléments constituant le bâtiment et, à partir d'une étude chromatique en harmonie avec la forme et le site, a conçu et réalisé la signalétique intérieure. Un collage original crée une porte symbolique à chaque unité de recherche et les adresses de tous les locaux sont des sérigraphies rappelant l'œuvre originale.

La réalisation

Cet ensemble a été réalisé par 20 entreprises.

Le chantier a été ouvert en mai 1986 par le forage de 182 pieux en béton armé devant faire reposer le bâtiment sur le bon sol à quelques 15 m de profondeur.

Il a été livré dans les délais contractuels aux premières équipes de recherches en mars 1988.

(Extraits du « Petit Journal des Biotechnologies à l'INRA », 7 octobre 1988)

Recherches en biotechnologies point de vue sur la sécurité

Les recherches en biotechnologies, science multidisciplinaire, reposent sur les connaissances dans des domaines aussi variés que la génétique, la biochimie, la microbiologie, la biologie moléculaire, la biologie cellulaire. Ces disciplines nécessitent la mise en œuvre : de radioéléments, de produits chimiques, de microorganismes modifiés ou non.

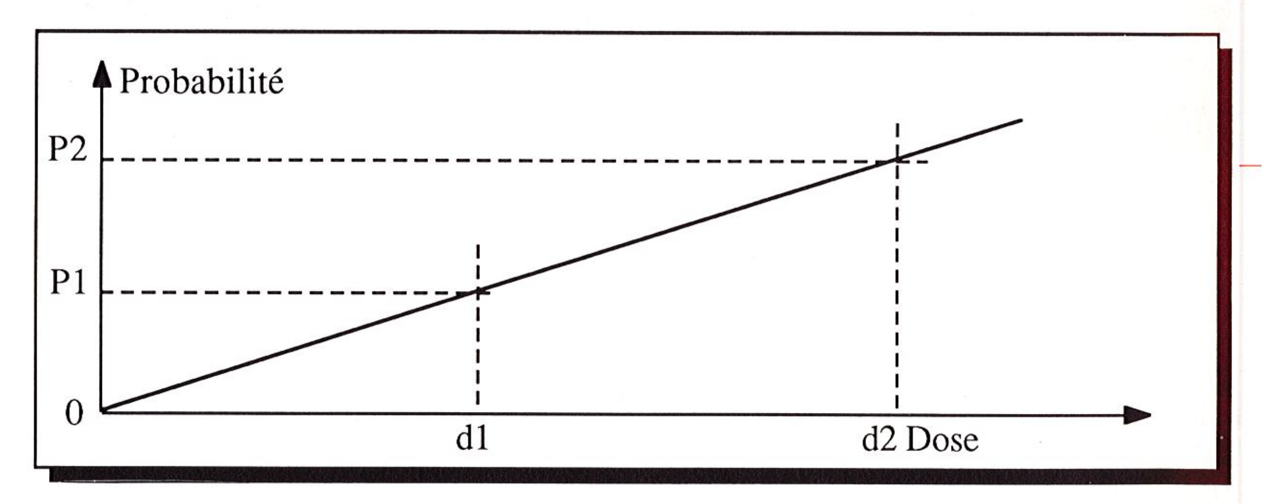
Notre propos ici sera centré sur une réflexion concernant ces trois sources potentielles de risques.



Radioélements

Les radioéléments employés au cours des recherches en biotechnologies se présentent sous forme de sources non scellées (molécules marquées), donc susceptibles d'entraîner un risque de contamination externe ou interne.

L'incorporation (pénétration de radioélements dans l'organisme) par voie de l'inhalation, de l'ingestion ou percutanée peut entraîner des effets biologiques stochastiques (aléatoires) tels que cancers, leucémies. Dans l'état actuel de nos connaissances, la Commission Internationale de Protection Radiologique (C.I.P.R.) considère que la probabilité d'apparition de ces effets suit une loi linéaire sans seuil.



Toute « dose » augmente la probabilité d'apparition des effets cités, tout comme l'exposition aux autres agents potentiellement cancérogènes tels que le benzène, la fumée de cigarette...

Comme chacun sait, nous ne sommes pas égaux devant ce type de risque. Il ne suffit pas d'être contaminé par un radioélément pour déclencher un cancer ou une leucémie (heureusement !).

Dans le domaine radiologique, on possède maintenant des données assez complètes sur les risques potentiels et les techniques de protection. La protection radiologique en est au stade de la protection optimale.

De plus contrairement aux autres nuisances, on a la chance de pouvoir suivre très facilement à la trace les radiocontaminants et donc de pouvoir se rendre compte des conditions de manipulation.

1900	1925	1950	1975	2000
Protection inexistante	Protection professionnelle	Protection publique	Protection optimale	

Evolution de la protection radiologique (HP.Jammet)

Produits chimiques



Dans la prévention des risques chimiques une attention particulière doit être accordée aux produits dits génotoxiques. L'utilisation de produits agissant au niveau du génome (mutagénes, cancérogènes) se généralise avec les techniques de biologie moléculaire et cellulaire.

Pour connaître la potentialité cancérogène d'un produit, il faut l'expérimenter *in vivo.* Les résultats obtenus avec une espèce animale ne sont pas forcément valables pour l'homme. Pour qu'une substance soit reconnue cancérogène chez l'homme, il faut des preuves épidémiologiques en plus de résultats expérimentaux chez l'animal.

En toxicité chimique, la multiplicité des produits n'a pas permis la concentration des efforts. L'épidémiologie notamment est très dispersée. Les groupes de travail du Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) établissent des priorités dans leurs études. Un des critères majeurs est la quantité produite et le nombre de personnes concernées par l'utilisation d'un composé. Il est logique dans ces conditions de constater qu'un grand nombre de substances utilisées dans nos laboratoires ne soit pas encore évaluées.

Bon nombre d'entre nous connaissent les efforts déployés par nos collègues A. Picot, Directeur de Recherches au CNRS, et I.Muranyi-Kovac, Chargé de mission aux risques chimiques pour l'INSERM. Continuellement, ils nous apportent les dernières informations disponibles sur les produits employés dans nos laboratoires.

En attendant de pouvoir clairement différencier les produits génotoxiques pour l'homme de ceux qui ne le sont pas, on se doit d'appliquer les mêmes règles d'extrême prudence que pour les produits reconnus potentiellement cancérogènes ; en particulier pour les substances se présentant sous forme volatile ou de poudre très divisée. Ces règles de prudence s'imposent tant au niveau de la manipulation sur la paillasse qu'au niveau des rejets dans l'environnement.

Microorganismes modifiés



Nous venons de voir que grâce aux techniques de génie génétique, il est possible d'isoler n'importe quel fragment d'ADN d'un organisme vivant, de le muter et de le réintroduire dans une cellule. Ce gène étranger peut s'exprimer et conférer à son hôte un nouveau caractère génétique, qui affecte également tous ses descendants.

Le risque potentiel d'une telle opération est lié au système biologique en cause. Les dangers sont appréciés cas par cas. Actuellement c'est un danger imaginé ou estimé comme possible, mais qui n'a jamais été observé.

Dès 1975, le ministère de la Recherche a mis en place une commission de classement pour les recombinaisons génétiques *in vitro,* et un document précisant les mesures à prendre lorsque l'on applique en laboratoire les techniques de recombinaison de l'ADN.

Depuis cette époque, au niveau national a été mise en place à l'AFNOR une Commission Générale des Biotechnologies. Celle-ci comprend trois commissions dont l'une porte le nom de « BIOSECURITE », elle-même constituée de deux commissions. L'une d'elles traite des problèmes de sécurité biologique rencontrés dans la recherche. Parmi les réalisations de ce dernier groupe de travail, on peut citer un « guide de bonnes pratiques pour les laboratoires de recherche : comportement des expérimentateurs et exigences concernant les installations et équipements ».

Au niveau des Communautés Européennes, on peut citer deux propositions récentes de directives sur les risques biologiques :

- Protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition aux agents biologiques pendant le travail — J.O. CEE du 8 juin 1988,
- Utilisation confinée de microorganismes génétiquement modifiés — J.O. CEE du 28 juin 1988.

Conclusions

Comme on peut le constater à la lecture de ces quelques lignes, la sécurité dans la recherche en biotechnologies est placée sous le signe de la diversité des sources de risques dont les effets sont de type aléatoire. Les problèmes posés par la sécurité radiologique sont beaucoup plus simples que ceux rencontrés dans le domaine chimique ou biologique.

Au niveau d'un poste de travail, on n'est pratiquement jamais exposé à un seul type de risque. Aussi la vigilance permanente des expérimentateurs se doit d'être accrue du fait, en particulier, des effets synergistes possibles (sommation ou multiplication des effets de chacun des composants).

Roland Choquet
Délégué National Prévention

Le Point

Biotechnologie : la protection des inventions du pain sur la planche

Sans le savoir, depuis des millénaires, en manipulant des êtres vivants, l'homme fait des biotechnologies : par exemple avec les fermentations produisant du pain, du vin ou du fromage, ou avec l'élevage, en sélectionnant des lignées. Dans sa forme moderne, la biotechnologie comprend le génie microbiologique et enzymatique, le génie génétique, la manipulation d'embryons, la culture cellulaire ... autant de techniques où l'activité inventive est débordante et où les résultats ont une importance économique de tout premier ordre.

Face à une invention, le dépôt d'un brevet est la seule attitude (hormis le cas particulier des C.O.V.*) où *la loi* confère une protection à l'inventeur et à celui qui veut l'exploiter, le secret n'offrant aucune garantie légale, et la divulgation aucun intérêt vis à vis de la concurrence.

Le problème de la « brevetabilité du vivant »

Dans de nombreux droits, et en particulier les droits français et européen, une invention pour être brevetable doit répondre à un certain nombre de critères.

Ces droits excluent explicitement de la brevetabilité :

« Les variétés végétales ou les races animales, ainsi que les procédés essentiellement biologiques d'obtention de végétaux ou d'animaux. Cette disposition ne s'appliquant pas aux procédés microbiologiques et aux produits obtenus par ces procédés ».

(Article 53-Loi sur Brevets Européens)

La loi exclut donc le plus souvent les inventions relatives au vivant et marque des différences apparaissant assez archaïques de nos jours (comme la différence faite entre macro- et micro-biologie, par exemple).

Cet article provient de la Convention de Strasbourg et a été rédigé il y a près de 25 ans.

De ce fait, bon nombre d'inventions issues des biotechnologies aujourd'hui ne sont pas protégeables ou le sont, mais mal, grâce à des prouesses et des artifices imaginés lors de la rédaction du brevet et entérinés par la jurisprudence.

Par exemple :

- un organisme transgénique (plante ou animal) n'est pas brevetable en soi mais le procédé de transformation à l'aide de l'ADN recombinant l'est, ainsi que le plasmide vecteur, et le gène transféré. Les protections ainsi accordées sont faibles : les techniques de génie génétique sont archi connues, il est le plus souvent difficile de mettre l'accent sur une activité inventive, la portée du brevet s'en ressent.

- Un microorganisme est brevetable s'il a été obtenu par un « procédé microbiologique » : qu'en est-il du screening, peut-on le considérer comme tel ?

Théoriquement, le micro-organisme ne pourra être protégé s'il n'a été qu'isolé : il ne constitue pas une invention nouvelle (il existait déjà dans la nature) et l'on ne peut s'approprier la nature.

Cependant, les cultures pures de micro-organismes n'existent jamais telles quelles dans l'environnement et, par ce biais, des souches ont pu être considérées comme issues de la main de l'homme et brevetées.

- Les lignées cellulaires, les tissus en culture, les hybridomes sont protégeables en eux mêmes, sur la seule foi que le texte de loi ne les interdisant pas, est brevetable tout ce qui n'est pas interdit.

La situation actuelle est donc extrêmement compliquée, les solutions trouvées peu satisfaisantes et il est à craindre que la plupart des brevets en biotechnologie ne soient accordés au détriment de leur portée.

La réflexion menée à Bruxelles étudie la possibilité de protéger les inventions concernant tous les organismes vivants, à l'exception de l'être humain. La solution n'est pas simple, et il ne faudrait pas imaginer qu'il suffirait de « modifier les lois pour rendre tout brevetable » :

- Où se situe la frontière entre ce qui est éthiquement acceptable ou non ?
- Quels seraient les critères de brevetabilité du vivant vu que les biotechnologies « n'inventent rien », mais ne font qu'exploiter et optimiser des phénomènes biologiques « naturels » ?
- Comment identifier une invention, pour prouver d'éventuelles contrefaçons ?
- La capacité de reproduction étant le propre des être vivants, comment assurer la protection sur la descendance d'un organisme nouvellement créé ?
- Faut-il compléter le texte de brevet d'un dépôt de micro-organisme ou d'organisme dans une banque de référence pour rendre parfaitement complète la description de l'invention ? Comment imaginer la gestion de telles banques ?

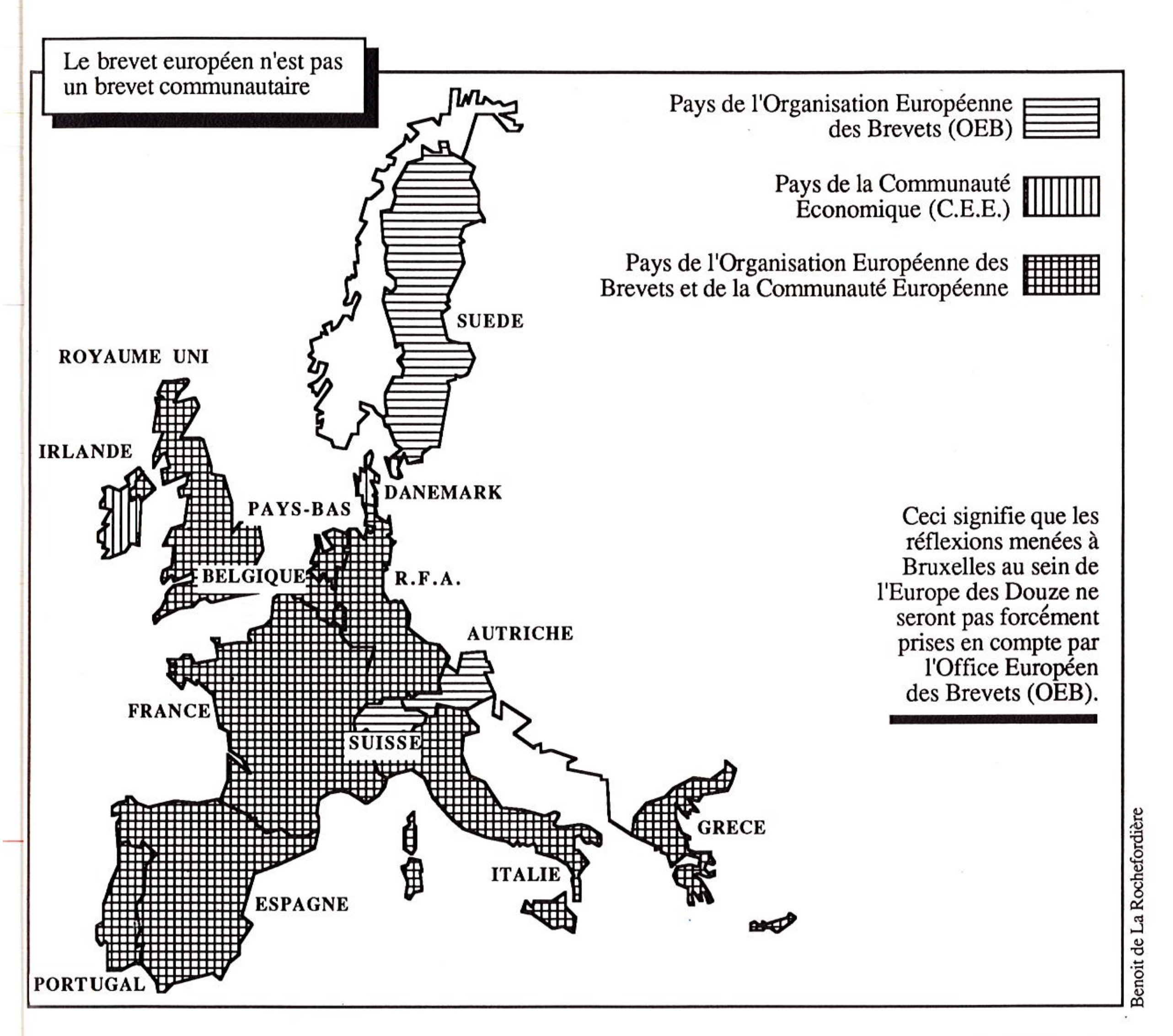
Voilà des questions, et non des moindres, qui restent toujours ouvertes.

L'attitude des grandes nations industrialisées

Grâce à leur vitesse, leur précision, leur répétabilité, les techniques modernes biotechnologiques représentent un potentiel économique considérable : leur marché a été évalué à au moins 240 billions de francs en l'an 2000.

Les deux pays leaders dans le domaine sont les Etats Unis, pour l'activité de recherche, et le Japon, pour l'activité commerciale.

Ils ont su, tous deux, adapter continuellement leurs lois, ou



l'interprétation de ces lois, aux besoins de l'industrie, de la science et de la consommation nationales.

Ainsi, aux USA, l'US Patent Office a rapidement accordé des brevets sur des organismes issus d'inventions biotechnologiques afin de protéger les résultats des recherches pour son industrie :

1980 : première confirmation par les tribunaux de la possibilité de protection par brevet d'un micro-organisme transgénique.

1985 : première protection par brevet de maïs ayant une teneur minimum en tryptophane.

1988 : premier brevet accordé sur un mammifère transgénique (une souris destinée à servir de modèle d'étude pour les laboratoires travaillant sur le cancer).

Les industriels détenteurs de ces brevets se trouvent en possession d'un véritable monopole d'exploitation sur ces produits, à l'abri de leurs concurrents.

En Europe, où la situation est celle que nous venons de décrire, le risque encouru de nos jours c'est de voir la bioindustrie européenne affaiblie par rapport à celle de ces « deux grands », qui ont pris de l'avance.

En supposant qu'il faille suivre l'exemple de ces « deux grands » et que l'Europe se décide à modifier la loi sur la protection du vivant, là où aux Etats Unis il a fallu presque 4 ans de discussions, de rapports, de controverses pour que la Cour Suprême se prononce en faveur de la brevetabilité des animaux transgéniques, combien de temps faudra-t-il en Europe, où ce n'est pas un seul état qui doit se déterminer, mais treize qui doivent arriver à trouver un accord ? ■

(*) C.O.V. : Certificat d'Obtention Végétale

BIOTECHNOLOGIES

Toutes les techniques qui provoquent ou utilisent des changements organiques dans du matériel biologique (plantes, animaux, cellules et tissus, organites, enzymes, plasmides ...)

LOI FRANCAISE

SONT BREVETABLES
« les inventions nouvelles, impliquant une activité inventive et susceptibles d'applications industrielles »

NE SONT PAS BREVETABLES
« les inventions contraires à l'ordre public et aux bonnes mœurs, les obtentions végétales dans les espèces pour lesquelles peuvent être délivrés des certificats d'obtentions végétales, les races animales, les procédés biologiques d'obtention de végétaux ou d'animaux ».

SAUF
« les procédés microbiologiques et les produits qui en découlent »

EN PLUS
« l'invention doit être exposée de façon suffisamment claire et complète dans la demande de brevet pour qu'un homme du métier puisse la reproduire ».

Direction des Relations Industrielles et de la Valorisation

Directeur de la Publication : Marie-Françoise Chevallier Le Guyader ; Responsable de l'INRA-Mensuel à la DIC : Denise Grail ; Secrétariat de rédaction : Marie-Ange Litadier-Dossou.

Comité de Rédaction : Odile Vilotte (Productions Végétales) ; Pierre Schellenberg (Productions Animales) ; Pierre Cruiziat, Agnès Hubert (Milieu Physique) ; Hélène Rivkine (Sciences Sociales) ; Marie Rabut, Gilles Fromentin (Industries Agro-Alimentaires) ; Isabelle Bordier-Ligonnière (Relations Internationales) ; Muriel Brossard (Relations Industrielles et Valorisation) ; Brigitte Cauvin (Service de Presse) ; Bernard Coquet (Service du Personnel) ; Patricia Watenberg (Service Juridique et du Contentieux) ; Nicole Vieille (Agence Comptable).

INRA, Direction de l'Information et de la Communication,
147, rue de l'Université, 75341 Paris Cedex 07.
Tél. : (1) 42 75 90 00.
Photothèque INRA.
Maquette : Philippe Dubois/Ed. Chourgnoz.
Imprimeur : SAGI IMPRIMERIE : 05/01862 ISSN : 0753-6062.
Numéro de commission paritaire : 1799 ADEP.